



# **INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

## **MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

### **CANDIDA E OPÇÕES TERAPÊUTICAS: VACINAS E ANTIFÚNGICOS**

Trabalho submetido por  
**Ana Filipa Fernandes de Carvalho**  
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

**outubro de 2015**



# **INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

## **MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

### **CANDIDA E OPÇÕES TERAPÊUTICAS: VACINAS E ANTIFÚNGICOS**

Trabalho submetido por  
**Ana Filipa Fernandes de Carvalho**  
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por  
**Mestre Teresa Nascimento**

**outubro de 2015**



## Dedicatória

---

*“Ninguém escapa ao sonho de voar, de ultrapassar os limites do espaço onde nasceu, de ver novos lugares e novas gentes. Mas saber ver em cada coisa, em cada pessoa, aquele algo que a define como especial, um objecto singular, um amigo, - é fundamental. Navegar é preciso, reconhecer o valor das coisas e das pessoas, é mais preciso ainda”*

*Antoine de Saint-Exupéry*

*Dissertação redigida segundo o antigo acordo ortográfico.*



## Agradecimentos

---

Em primeiro lugar gostaria de agradecer ao Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz por toda a dedicação no ensino tanto em termos de corpo docente como em material prático que faz com que possamos adquirir conhecimentos na nossa área fundamentais.

À minha orientadora, Mestre Teresa Nascimento, por me ter proporcionado o prazer da sua ajuda e dos seus conselhos indispensáveis.

Aos meus pais e ao meu padrasto “Paulito” por toda ajuda e dedicação em tornar este meu sonho possível e, principalmente, por me tornarem naquilo que sou hoje.

Gostaria de agradecer a todos os professores com quem tive o prazer de me cruzar por todos os conhecimentos que me transmitiram e toda a paciência para ajudar sempre que precisei. Aos meus colegas, aos bons e aos maus, por todo o companheirismo e por me mostrarem que às vezes temos que ser adaptáveis ao nosso meio e não ao contrário.

E, claro, aos meus amigos. Aos meus amigos do secundário por com eles perceber que apesar das pessoas seguirem caminhos diferentes, podem sempre encontrar-se, por estarem sempre disponíveis quando mais precisei de espalhar e por, através de conversas, conseguirmos sempre partilhar experiências no campo da imaginação. Aos meus amigos da faculdade – que dizem que são para sempre – por fazerem esta experiência valer ainda mais a pena, principalmente, às minhas meninas – Cláudia, Cristiana e Tatiana – por fazerem parte do melhor grupo que podia ter, por todas as brincadeiras, parvoíces, discussões, por todos os trabalhos de grupos, todas as ajudas, todo o companheirismo, por crescerem comigo dentro desta experiência.

Cada um à sua maneira fizeram desta experiência um pouco mais possível.

A todos vocês, o meu gigante Obrigada.



## Resumo

---

Muitas espécies do género *Candida* vivem no ser Humano como comensais. Porém, quando o sistema imunitário deste, por algum motivo, fica comprometido, estes microrganismos inofensivos podem tornar-se patogénicos, capazes de desenvolver infecções graves tanto sistémicas como mucocutâneas.

O número de infecções oportunistas associadas a *Candida* spp. tem sido crescente nos últimos anos devido ao aumento de factores de risco nomeadamente, o aperfeiçoamento do tratamento anticancerígeno, as melhorias na transplantação de órgãos sólidos e, principalmente a pandemia pelo vírus da imunodeficiência humana (VIH).

As infecções fúngicas por *Candida* que requerem maior preocupação são as candidemias e as candidoses invasivas. Por estarem associadas a taxas de morbilidade e mortalidade elevadas, particularmente pela dificuldade na escolha atempada do tratamento correcto, complicada pela escassez de fármacos antifúngicos disponíveis e também pela sua elevada toxicidade. Actualmente, encontram-se disponíveis na prática clínica apenas quatro classes de antifúngicos para o tratamento da infecção por *Candida*: azóis, polienos, equinocandinas e análogos de nucleósidos.

De maneira a diminuir a incidência deste tipo de infecções e os custos associados a estas, as vacinas têm sido propostas como um forte método de prevenção em indivíduos imunocomprometidos. Porém, devido às dificuldades na sua obtenção, ainda não existe nenhuma vacina antifúngica disponível. Neste momento encontram-se algumas vacinas em desenvolvimento principalmente contra candidose vulvovaginal recorrente.

Palavras-chave: *Candida*, candidose invasiva, antifúngicos e vacinas.





# Abstract

---

Many species from the genus *Candida* live in Humans as commensal microorganisms. However, when the immune system, for some reason, is compromised, those harmless microorganisms can become pathogenic, capable of developing serious infections both systemic and mucocutaneous.

The number of opportunistic infections has been rising in recent years due to the increase of risk factors such as the improvement of anticancer treatment, in transplantation and particularly the HIV pandemic.

Fungal infections by *Candida* requiring greater concern are candidemias and invasive candidiasis. Besides it's high morbidity and mortality, the lack of existence of antifungal drugs acting against these microorganisms and it's high toxicity make the choice of the correct antifungal more complicated. Currently, there are only four classes of antifungal agents against *Candida* available in clinical practice: azoles, polienes, echinocandins, and nucleoside analogs.

In order to decrease the incidence of these infections and its costs, vaccines have been proposed as a strong preventive method in immunocompromised individuals. However, due to difficulties in it's obtaining, there is still no antifungal vaccine available. Presently, there are few vaccines in development especially against recurrent vulvovaginal candidiasis.

Keywords: *Candida*, invasive candidiasis, antifungals and vaccines.



# Índice

---

1. Introdução.....	19
2. Género <i>Candida</i> .....	23
2.1. Biologia e Taxonomia.....	23
2.2. Epidemiologia.....	26
2.2.1. Em Portugal .....	29
2.3. Patogenicidade .....	29
2.3.1. Factores de virulência.....	29
2.3.2. Mecanismos de defesa do hospedeiro .....	34
2.4. Factores de risco .....	35
2.5. Transmissão .....	37
2.6. Significado clínico .....	38
3. Opções terapêuticas.....	41
3.1. Prevenção.....	41
3.1.1. Vacinas .....	41
3.2. Tratamento .....	51
3.2.1. Antifúngicos .....	52
4. Conclusão.....	75
5. Bibliografia.....	77



## Índice de figuras

---

Figura 1. Epifluorescência de fotocomposição das diferentes formas de crescimento de <i>C. albicans</i> .....	24
Figura 2. Fases da formação de biofilmes .....	31
Figura 3. Biofilme de <i>C. albicans</i> por microscopia electrónica de varrimento.....	32
Figura 4. Fisiopatologia da Candidose Invasiva.....	37
Figura 5. Alvos dos diferentes fármacos antifúngicos .....	51
Figura 6. Estrutura química da Anfotericina B.....	54
Figura 7. Diferenças entre a estrutura química do colesterol e do esterol.....	55
Figura 8. Estrutura química do Fluconazol .....	57
Figura 9. Estrutura química do Itraconazol .....	58
Figura 10. Estrutura química do Voriconazol .....	60
Figura 11. Estrutura química do Posaconazol .....	61
Figura 12. Estrutura química das equinocandinas .....	65
Figura 13. Estrutura química da Flucitosina.....	68



## Índice de tabelas

---

Tabela 1. Características das espécies de <i>Candida</i> mais isoladas em hemoculturas.....	25
Tabela 2. Taxonomia do género <i>Candida</i> .....	26
Tabela 3. Factores de risco do hospedeiro para candidose invasiva .....	36
Tabela 4. Infecções mucocutâneas causadas por <i>Candida</i> spp. ....	38
Tabela 5. Infecções invasivas causadas por <i>Candida</i> spp. ....	39
Tabela 6. Várias estratégias exploradas para o desenvolvimento de vacinas contra candidose invasiva e candidose mucocutânea .....	43
Tabela 7. Algumas estratégias para aumentar a actividade das vacinas para <i>Candida</i> spp. ....	44
Tabela 8. Vacinas mais estudadas contra candidose vulvovaginal recorrente .....	46
Tabela 9. Fármacos antifúngicos e seus alvos celulares.....	53
Tabela 10. Resumo das principais diferenças farmacológicas entre os triazóis disponíveis na prática clínica.....	62
Tabela 11. Diferenças farmacocinéticas entre equinocandinas .....	65
Tabela 12. Vias de administração e parâmetros farmacocinéticos dos diferentes fármacos antifúngicos existentes na prática clínica.....	69
Tabela 13. Espectro de actividade <i>in vitro</i> dos antifúngicos contra <i>Candida</i> spp.....	72
Tabela 14. Esquemas terapêuticos segundo a IDSA e a FDA.....	72





## Lista de abreviaturas

---

ADN - Ácido desoxirribonucleico

Als3p – Sequência da proteína aglutinina-3

ARN - Ácido ribonucleico

Cl<sub>cr</sub> – Depuração da creatinina

CMI – Concentração Mínima Inibitória

CYP – Citocromo P

Gap1 – Desidrogenase de gliceraldeído-3-fosfato

GPI – Proteína glicosilfosfatidilinositol

IV – Intravenoso

PRR – Receptor de reconhecimento padrão

Sap – Aspartil Proteinases Secretórias

TLR – Receptor *Toll-like*

UCI – Unidade de Cuidados Intensivos

UFC – Unidade Formadora de Colônias

VIH – Vírus da Imunodeficiência Humana



# 1. Introdução

---

A Micologia Médica, isto é, a ciência que estuda os fungos, data do início do século XIX quando Agostino Bassi, intitulado de “O pai da micologia clínica”, relacionou a presença de um fungo com uma doença encontrada no bicho-da-seda. Todavia, foi com Langenbeck, em 1839, que surgiu pela primeira vez documentação relacionada com o género *Candida* enquanto elemento patogénico. Esta descoberta resultou do isolamento de um microrganismo presente numa afta bucal de um paciente. Este patogénico foi posteriormente denominado de *Candida albicans* (*C. albicans*). Ainda assim, só a partir dos anos 70 (século XX), a Micologia ganha relevância e necessidade de ser estudada e entendida (Giolo & Svidzinski, 2010; Naglik, Challacombe, & Hube, 2003).

Hoje em dia, os fungos estão na origem de várias doenças infecciosas no Homem. Grande parte dessas doenças é causada pelo género *Candida* que pode originar um vasto e diversificado leque de infecções: localizadas ou superficiais, que afectam a pele ou mucosas, ou formas mais graves, como as infecções sistémicas denominadas candidoses invasivas que afectam a corrente sanguínea – candidemia – e posteriormente disseminam-se para os órgãos internos (Ben-Ami & Denning, 2015; Giolo & Svidzinski, 2010; Kontoyiannis, Mantadakis, & Samonis, 2003; Spampinato & Leonardi, 2013).

Em doentes hospitalizados, as infecções fúngicas são principalmente causadas pelas leveduras do género *Candida* sendo estas consideradas infecções nosocomiais, ou seja, de aquisição em meio hospitalar. Neste momento *Candida* spp. é a quarta causa mais comum de infecção nosocomial sendo responsável por cerca de 8 a 10% dos casos (Ben-Ami & Denning, 2015; Koehler, Tacke, & Cornely, 2014).

A candidemia é uma infecção mundial que, tanto em crianças como em adultos está estreitamente relacionada com uma taxa elevada de morbilidade e mortalidade, distinguindo-se assim, das infecções bacterianas. Para além disso, diferencia-se também pelos seus custos elevados associados, sobretudo, pela necessidade de maior tempo de internamento hospitalar (Bruder-Nascimento et al., 2010; Giolo & Svidzinski, 2010;

Lockhart, 2014; Manolakaki et al., 2010; Paramythiotou, Frantzeskaki, Flevari, Armaganidis, & Dimopoulos, 2014).

Dos vários estudos disponíveis, tem sido possível demonstrar que a candidemia está a tornar-se um problema de saúde pública tendo aumentado a sua taxa de incidência nas últimas décadas, nomeadamente, a partir de 1980. Este aumento tem sido notado, principalmente, nos doentes imunocomprometidos ou hospitalizados com doenças subjacentes. Segundo alguns estudos, a taxa de mortalidade associada a candidemia encontra-se entre 10% a 49% (Lockhart, 2014; Moriyama et al., 2014; Naglik et al., 2003; Sardi, Scorzoni, Bernardi, Fusco-Almeida, & Mendes Giannini, 2013).

São diversos os factores de risco que têm levado ao aumento das infecções por *Candida* no entanto, a pandemia pelo VIH e os avanços no tratamento de doenças cancerígenas e na transplantação continuam a ser as principais causas responsáveis por esse aumento, sejam elas infecções da corrente sanguínea ou dermatológicas (Wüthrich, Deepe Jr., & Klein, 2012; Zarrin & Mahmoudabadi, 2009).

De maneira a alcançar o sucesso terapêutico é necessário que o diagnóstico da infecção seja feito atempadamente para que o tratamento farmacológico aplicado seja o mais apropriado possível (Giolo & Svidzinski, 2010; Paramythiotou et al., 2014).

Por outro lado, o arsenal antifúngico é reduzido e, com o aumento das resistências aos mesmos, associados à elevada toxicidade, existe também uma maior dificuldade na escolha terapêutica. Neste momento encontram-se na prática clínica quatro classes de antifúngicos: polienos, azóis, equinocandinas e os análogos de nucleósidos. A escolha do antifúngico correcto deve ter em consideração vários factores tanto do fármaco como do doente (Moriyama et al., 2014; Seghir, Boucherit-Otmani, Belkherroubi-Sari, & Boucherit, 2014).

De modo a inverter a situação actual, têm vindo a ser investigadas vacinas com fim a actuar de uma forma preventiva neste tipo de doenças, principalmente em doentes imunocomprometidos. No entanto, neste momento, apenas se encontram em desenvolvimento vacinas para prevenção de candidose vulvovaginal recorrente - infecção que afecta a grande maioria das mulheres pelo menos uma vez na vida – que, apesar de não ser letal, põe em causa a qualidade de vida. Apesar dos avanços no

desenvolvimento de vacinas antifúngicas, actualmente ainda não se encontra nenhuma comercializada (Cassone, 2014; Moriyama et al., 2014; Wüthrich et al., 2012).

No âmbito desta dissertação serão desenvolvidas estratégias de tratamento de infecções fúngicas causadas por *Candida* spp. e futuras moléculas de prevenção e tratamento das mesmas.



## 2. Género *Candida*

---

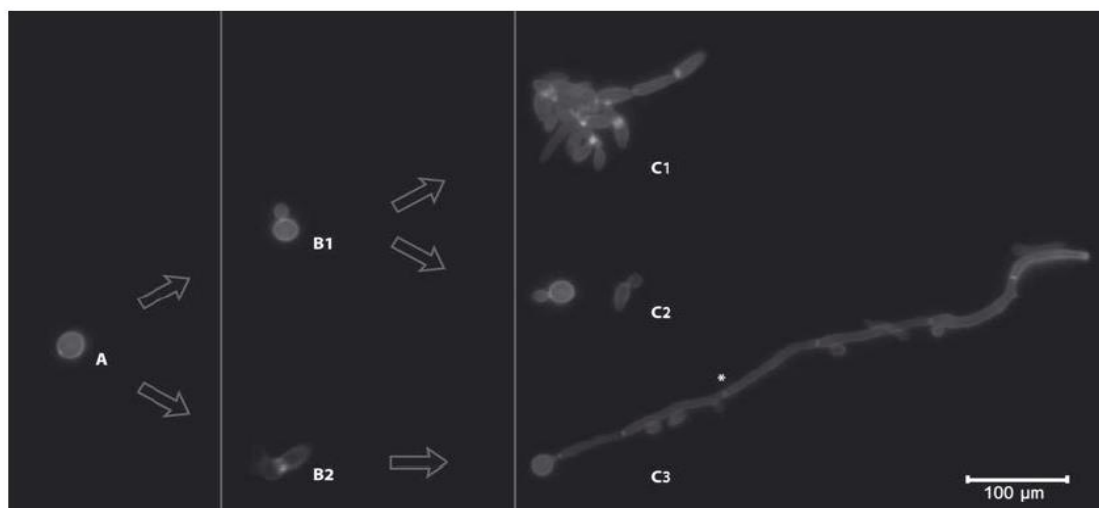
### 2.1. Biologia e Taxonomia

O género *Candida* é constituído por leveduras unicelulares de forma oval, elíptica ou cilíndrica. O seu tamanho varia entre 3 e 5 µm (López-Martínez, 2010).

Quando inoculadas em meio de Sabouraud formam colónias cremosas brancas, cremes ou amareladas. Dependendo das espécies, as colónias podem ainda ter uma textura lisa e brilhante ou seca e rugosa. Com vista à sua melhor distinção, é utilizado um meio cromogénico – como, por exemplo, CHROMagar® – em que as diferentes espécies de *Candida* podem ser distinguidas através da formação de colónias de cores diferentes (Tabela 1) (López-Martínez, 2010; Silva et al., 2012).

Quanto ao crescimento, as leveduras de *Candida* podem crescer na forma de blastoconídios (células em gemulação), hifas ou pseudohifas. Dizem-se pseudohifas quando estas se formam por gemulação continuando ligadas à célula parental enquanto se alongam originando assim, prolongamentos com constrições nas junções célula-célula que, no entanto, não se tratam de septos transversais. Por outro lado, as hifas desenvolvem-se através de projecções de tubos germinais que se alongam e que, através de septos, se dividem em unidades separadas (Figura 1 e Tabela 1) (Silva et al., 2012).









**Figura 1.** Epifluorescência de fotocomposição das diferentes formas de crescimento de *C. albicans*. (A) blastoconídio; (B1) reprodução por gemulação; (B2) formação de tubo germinativo; (C1) formação de pseudohifa; (C2) levedura (blastoconídios); (C3) formação de hifa (Retirado de Silva et al., 2012)

A reprodução das espécies de *Candida* também se pode fazer através de reprodução sexuada podendo obter-se espécies que formam um genoma diplóide ou haplóide. Porém, as diferentes espécies de *Candida* são normalmente distinguidas através de testes de fermentação de açúcares e de produção de tubos germinativos (Tabela 1) (Gow, 2013).

**Tabela 1.** Características das espécies de *Candida* mais isoladas em hemoculturas (Adaptada de Butler et al., 2009; Gupta et al., 2015; Silva et al., 2012)

	Colônias (Sabouraud)	Colônias (CHROMagar®)	Crescimento	Tubo germinativo	Fermenta- ção	Genoma
<i>Candida albicans</i>	Brancas cremosas 	Azuis esverdeadas	Blastoconídios, hifas e pseudohifas	+	Vários açúcares, excepto sacarose	Diplóide
<i>Candida glabrata</i>	Lisas e brilhantes; cor creme 	Brancas, cor-de- -rosa	Blastoconídios	-	Glicose e trealose	Haplóide
<i>Candida tropicalis</i>	Bordas miceliais; cor creme 	Azuis escuras	Blastoconídios, pseudohifas e hifas	-	Sacarose e maltose	Diplóide
<i>Candida parapsilosis</i>	Lisas/rugosas, brilhantes; brancas cremosas 	Brancas	Blastoconídios, pseudohifas grandes e curvadas	-	Não fermenta maltose	Diplóide

Com todos os avanços tecnológicos, que facilitam a descoberta de novas espécies, hoje em dia já existem cerca de 200 espécies descobertas pertencentes ao

género *Candida* sendo que, muitas delas fazem parte da flora comensal do ser humano nomeadamente, tracto gastrointestinal, uretra, vagina e tracto respiratório superior. A classificação taxonómica das espécies *Candida* é referida na Tabela 2 (Bedout & L. Gomez, 2010; Giolo & Svidzinski, 2010; López-Martínez, 2010; Paramythiotou et al., 2014; Zarrin & Mahmoudabadi, 2009).

**Tabela 2.** Taxonomia do género *Candida* (Giolo & Svidzinski, 2010; López-Martínez, 2010)

Reino	<i>Fungi</i>
Divisão	Eumycota
Subdivisão	Deuteromycotina
Filo	Ascomycetes
Classe	Blastomycetes
Ordem	Cryptococcales
Família	Cryptococcaceae
Género	<i>Candida</i>

De entre todas as espécies de *Candida*, apenas 15 são as principais causadoras de infecções, englobando *C. albicans* - o principal organismo patogénico oportunista isolado em Humanos -, *Candida glabrata* (*C. glabrata*), *Candida parapsilosis* (*C. parapsilosis*), *Candida tropicalis* (*C. tropicalis*), *Candida krusei* (*C. krusei*), *Candida dubliniensis* (*C. dubliniensis*), *Candida famata*, *Candida guilliermondii* (*C. guilliermondii*), *Candida pelliculosa* (*C. pelliculosa*), *Candida rugosa* (*C. rugosa*), *Candida lusitaniae* (*C. lusitaniae*), *Candida kefyr*, *Candida norvegensis*, *Candida lipolytica* e *Candida inconspicua* (Giolo & Svidzinski, 2010; Kabir, Hussain, & Ahmad, 2012; Sardi et al., 2013; Yapar, 2014; Zarrin & Mahmoudabadi, 2009).

## 2.2. Epidemiologia

A prevalência da candidose tem vindo a aumentar substancialmente desde a década de 80. Com esse aumento, as alterações epidemiológicas do género *Candida* têm

vindo a ser notáveis (Giolo & Svidzinski, 2010; Lockhart, 2014; Sardi et al., 2013; Zarrin & Mahmoudabadi, 2009).

Candidemia representa, em doentes hospitalizados, a principal causa de mortalidade. De entre todas as infecções fúngicas oportunistas, reproduz cerca de 8% a 10% das infecções sanguíneas e por isso, retracts a quarta maior causa de doença nosocomial. De todos os serviços hospitalares, a Unidade de Cuidados Intensivos (UCI) é aquela que regista o maior número de casos (Ben-Ami & Denning, 2015; Edwards, 2012; Giolo & Svidzinski, 2010; Koehler et al., 2014; Laupland, Gregson, Church, Ross, & Elsayed, 2005; Lockhart, 2014; Moriyama et al., 2014; Paramythiotou et al., 2014).

Ao longo do tempo têm sido efectuados diversos estudos epidemiológicos sobre a incidência de *Candida* spp.. Porém, a sua análise é bastante dificultada pela elevada variação das suas espécies. Esta variação é afectada pelas diferenças regionais bem como, pela idade e factores de risco do paciente. Segundo um estudo realizado em 2007 em que se avaliaram 14000 doentes em 1265 serviços de UCI de 76 países diferentes com localizações geográficas distintas, a prevalência de candidemia medida durante 1 dia foi de 6,9 por cada 1000 pacientes sendo que a espécie mais isolada foi *C. albicans*. A candidemia, em conjunto com o elevado tempo de permanência nas UCI, leva a um aumento da mortalidade. Através de vários estudos foi possível estimar que a mortalidade associada a candidemia varia entre 10% a 49%. Por outro lado, a mortalidade associada a qualquer tipo de infecção pelo género *Candida* varia entre 19% e 60% (Alcazar-Fuoli & Mellado, 2014; Bedout & Gomez, 2010; Lockhart, 2014; Moriyama et al., 2014; Zarrin & Mahmoudabadi, 2009).

Em indivíduos imunocomprometidos, a maioria das infecções por *Candida* - cerca de 95% dos casos – são causadas por apenas 5 espécies: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei*. Apenas uma pequena percentagem está associada a outras espécies de *Candida* tais como, *C. lusitaniae*, *C. guilliermondii* e *C. rugosa* (Bedout & Gomez, 2010; Sardi et al., 2013; Yapar, 2014).

Apesar dos estudos efectuados mostrarem que a incidência de *C. albicans* tem vindo a diminuir, esta continua a ser a principal responsável por fungemia entre as diversas espécies de *Candida*. Por outro lado, o número de infecções causadas pelas espécies não-*albicans* tem vindo a aumentar. Estas alterações na incidência das espécies

de *Candida* podem ser explicadas pelo aumento de população imunocomprometida, uso profilático de fluconazol, aumento do uso de antibióticos de largo espectro, aumento da população idosa e recém-nascidos prematuros, transplantados e doentes neoplásicos e ainda pelo aumento da capacidade dos laboratórios em isolar e identificar novas espécies (Alcazar-Fuoli & Mellado, 2014; Bedout & Gomez, 2010; Giolo & Svidzinski, 2010; Laupland et al., 2005; López-Martínez, 2010; Paramythiotou et al., 2014; Sardi et al., 2013).

Se considerarmos a distribuição geográfica de *Candida* spp., tanto nos Estados Unidos como na Europa a espécie mais prevalente é *C. albicans*, causando cerca de  $50\% \pm 10\%$  das infecções. De salientar que, nos Estados Unidos, a infecção sanguínea causada pelo género *Candida* representa cerca de 7,6% dos casos e, entre 1997 e 2001, a taxa de mortalidade foi de 49%. Nos últimos anos, *C. glabrata* tem sido a segunda causa e *C. parapsilosis* a terceira, porém a sua proporção é ainda muito variável. *C. tropicalis* e *C. krusei* encontram-se também entre as espécies mais prevalentes tanto nos Estados Unidos como na Europa. Esta situação é semelhante à da Austrália com a excepção que, neste país, *C. parapsilosis* é mais abundante que *C. glabrata* (Giolo & Svidzinski, 2010; Lockhart, 2014; Sardi et al., 2013; Zarrin & Mahmoudabadi, 2009).

No continente Asiático, os valores epidemiológicos variam bastante de país para país. Na Índia, *C. tropicalis* é a espécie predominante. No Paquistão, esta também é a espécie em maior proporção e *C. albicans* encontra-se em quarto lugar, sendo ultrapassada por *C. parapsilosis* e *C. glabrata*. Característica excepcional é o facto de 17,5% dos isolados no Paquistão pertencerem a espécies raras como *Candida viswanathii* e *Candida fabianii*. No Irão, é ainda de salientar que a candidemia é a segunda causa de infecções fúngicas invasivas (Lockhart, 2014; Zarrin & Mahmoudabadi, 2009).

Na América Latina, na generalidade dos estudos, *C. albicans* mantém-se como a principal causa, seguindo-se *C. tropicalis* (15-24%), *C. parapsilosis* (9-35%) e *C. glabrata* (< 10%) (Lockhart, 2014).

Ao contrário dos restantes continentes, o continente Africano ainda não apresenta estudos epidemiológicos suficientes para que se possam retirar interpretações mais pormenorizadas (Lockhart, 2014).

### 2.2.1. Em Portugal

Tal como no resto do Mundo, também no nosso país o aumento da incidência das espécies não-*albicans* e, conseqüentemente, a diminuição de *C. albicans*, tem vindo a ser observada (Mendes, 2012).

Segundo um estudo observacional, descritivo e multicêntrico realizado por Faria-Ramos et al. (2014), durante um ano, em dez hospitais portugueses, o total de isolados em casos de fungemia foi de 240, correspondendo a uma incidência média de 0,88 episódios por cada 1000 admissões e 0,74 casos de infecção fúngica nosocomial por cada 1000 internamentos. A grande maioria dos isolados de hemoculturas foi proveniente das UCI e de enfermarias de cuidados cirúrgicos sendo *C. albicans* a espécie predominante com 40,4% do total de isolados, seguindo-se *C. parapsilosis* com 22,9% dos casos, *C. glabrata* 13,3%, *C. tropicalis* 6,3% e *C. krusei* com 5% dos isolados. A taxa de mortalidade por fungemia foi cerca de 25% sendo *C. glabrata* a espécie mais mortal com cerca de 50% de letalidade em apenas 30 dias após o diagnóstico.

## 2.3. Patogenicidade

### 2.3.1. Factores de virulência

A capacidade de *Candida* spp. para sobreviver em vários locais do corpo humano com pressões ambientes distintas em conjunto com os diversos factores de virulência que esta possui é o que a torna num organismo fúngico patogénico. Quando o hospedeiro se torna mais frágil, a acção dos factores de virulência é facilitada e a patogenicidade aumenta (Calderone & Fonzi, 2001; Finkel & Mitchell, 2011).

Diversos estudos têm sido realizados com fim a identificar os factores de virulência do género *Candida* porém, ainda pouco se sabe acerca das espécies não-*albicans* (Sardi et al., 2013).

Assim, no que hoje se sabe, os factores de virulência abrangem a adesão aos tecidos e instrumentos médicos, a capacidade de invasão, a formação de biofilmes e a produção de enzimas hidrolíticas prejudiciais superando, deste modo, as defesas do hospedeiro (Leão, Silva, Santos, & Leite, 2015; Sardi et al., 2013).

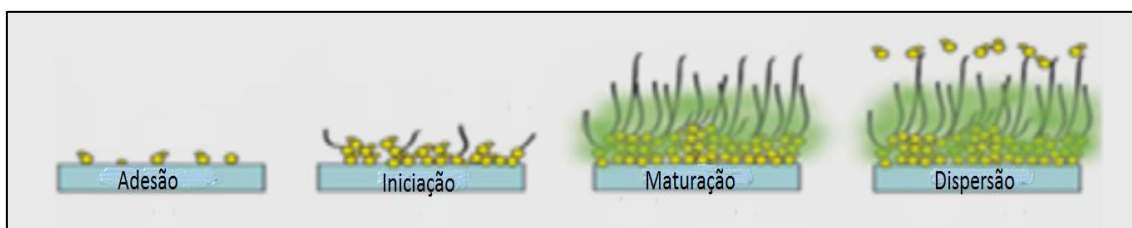
- Adesão e biofilmes

A primeira etapa do processo de virulência obriga a que as células fúngicas identifiquem e se liguem às células e proteínas do hospedeiro. A esta ligação dá-se o nome de adesão e pode ocorrer tanto em superfícies bióticas como abióticas (cateteres, ventiladores, próteses, entre outros), podendo mesmo conduzir à formação de biofilmes. O início da adesão é controlado por factores não específicos como as forças electrostáticas e a hidrofobicidade e promovido pelas proteínas específicas da superfície das células fúngicas denominadas adesinas. As adesinas irão ligar-se aos aminoácidos e açúcares das células do hospedeiro ou às superfícies abióticas e assim promover o fenómeno de adesão (Calderone & Fonzi, 2001; Sardi et al., 2013).

Depois de ocorrido o processo de adesão, podem desenvolver-se biofilmes. Os biofilmes são estruturas ainda difíceis de compreender e com uma enorme função na patogénese pois possuem a capacidade de criar resistência aos fármacos causando, de forma indirecta, um aumento das infecções e maior dificuldade na obtenção do sucesso terapêutico. Detêm uma matriz tridimensional complexa onde os microrganismos são incorporados, formando uma barreira de difusão que irá diminuir a penetração de fármacos, actuando estes apenas nas camadas mais superficiais e, deste modo, conferem protecção ao desenvolvimento das espécies fúngicas em ambientes adversos. Essa matriz é detentora de uma constituição variável sendo formada por proteínas, hidratos de carbono, fósforo e hexosaminas. Porém, a sua constituição é também afectada pelo meio ambiente como o pH, a composição do meio, o oxigénio e pela espécie fúngica que originou o biofilme (Davey & O'toole, 2000; Harriott, Lilly, Rodriguez, Fidel, &

Noverr, 2010; Martinez & Fries, 2010; Ozkan, Kaynak, Kalkanci, Abbasoglu, & Kustimur, 2005; Sardi et al., 2013).

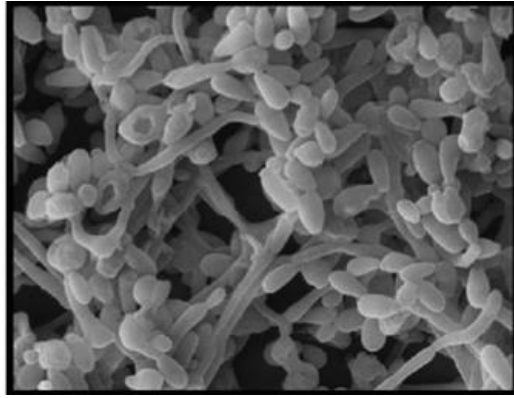
A formação de biofilmes compreende quatro etapas. A primeira é a já supracitada adesão. A segunda etapa é chamada de iniciação e compreende a proliferação da levedura *Candida* através de projecções de formas alongadas que irão originar as hifas ou pseudohifas. De seguida dá-se a maturação dos biofilmes onde ocorre o prolongamento contínuo das hifas sendo, nesta etapa, que se começa a desenvolver a resistência aos fármacos antifúngicos. Por fim, a quarta e última etapa é denominada de dispersão visto que se dá a libertação para o meio circundante de todas as células fúngicas não aderentes. Todas as etapas ocorrem de forma simultânea (Figura 2) (Chandra et al., 2001; Finkel & Mitchell, 2011; Harriott et al., 2010; Ramage, Mowat, Jones, Williams, & Lopez-Ribot, 2009).



**Figura 2.** Fases da formação de biofilmes (Retirada e adaptada de Finkel & Mitchell, 2011)

Neste momento, é notório que a maior parte das infecções não é causada por fungos na sua forma planctónica isto é, na sua forma livre, mas sim por agregados fúngicos multicelulares – os biofilmes. Colocando em foco *C. albicans*, sabe-se que os biofilmes formados por esta espécie são constituídos por pequenas células ovais – os blastoconídios – e por células tubulares – as hifas (Figura 3) (Finkel & Mitchell, 2011; Ganguly & Mitchell, 2011; Harriott et al., 2010; Sardi et al., 2013; Soll, 2008).





**Figura 3.** Biofilme de *C. albicans* por microscopia electrónica de varrimento (Retirado de Sardi et al., 2013)

De entre as espécies de *Candida*, está provado que, para além de *C. albicans*, também *C. glabrata*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* são capazes de originar biofilmes. A matriz formadora do biofilme será diferente consoante a espécie a que pertence visto que diferem na quantidade de proteínas e hidratos de carbono (Ganguly & Mitchell, 2011; Silva et al., 2009; Soll, 2008).

- Morfogénese

O fenómeno de morfogénese é descrito como a transição entre células unicelulares de leveduras (crescimento isotrópico) e uma forma filamentosa como hifas ou pseudohifas (crescimento apical). *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. dubliniensis* são os únicos exemplos onde este processo ocorre. Quando na forma de hifas, estas espécies tornam-se mais virulentas, aumentando a capacidade de invasão dos tecidos do hospedeiro (Calderone & Fonzi, 2001; Jayatilake, Samaranayake, Cheung, & Samaranayake, 2006).

- Produção de enzimas hidrolíticas

As enzimas hidrolíticas como as proteases, fosfolipases e hemolisinas têm um papel fundamental na patogenicidade. Estas enzimas irão actuar nos processos de adesão, penetração, invasão e destruição dos tecidos do hospedeiro (Calderone & Fonzi, 2001; Silva et al., 2011).

No caso de *C. albicans*, a actividade proteiásica está a cargo de 10 isoenzimas aspartil proteinases (Sap). Estas irão ser codificadas pelos genes *SAP1-10*. Os genes *SAP1-6* são responsáveis pelo processo de adesão, por causar danos nos tecidos e por alterar a resposta imune. Os genes *SAP9-10* têm o papel de preservar a superfície reguladora da célula fúngica. Para além de *C. albicans*, a presença das Sap também já foi confirmada em *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. guilliermondii* (Calderone & Fonzi, 2001; Sardi et al., 2013).

As lipases desempenham várias funções tais como a digestão de lípidos, a adesão às células e tecidos do hospedeiro e o começo não específico dos processos inflamatórios. Durante uma infecção, as lesões tecidulares podem ser diminuídas através de inibidores das lipases. Adicionalmente, através de estudos feitos com mutantes de *C. parapsilosis* lipases-negativo foi possível observar que nestes também a formação de biofilmes foi impossibilitada tornando estes mutantes menos virulentos (Gácsér, Trofa, Schäfer, & Nosanchuk, 2007; Stehr et al., 2004).

No que diz respeito à produção de hemolisinas pelas leveduras, estas têm como função destruir os glóbulos vermelhos de modo a obterem ferro para o seu desenvolvimento e, desta forma, estabelecerem um processo infeccioso (Pakshir et al., 2013).

Resumindo, o aumento da patogenicidade é directamente proporcional ao aumento da produção das enzimas hidrolíticas levando consequentemente a problemas clínicos de maior gravidade (Sardi et al., 2013).

### 2.3.2. Mecanismos de defesa do hospedeiro

Para além dos factores de virulência, a gravidade de uma infecção por *Candida* também depende dos mecanismos de defesa inatos e adaptativos do hospedeiro e da integridade dos mesmos (Wüthrich et al., 2012).

Quando o organismo é infectado, os receptores de reconhecimento padrão (PRR) como integrinas, lectinas e receptores *Toll-like* (TLR) que se encontram na superfície das células do sistema imunitário inato - neutrófilos, macrófagos e células *natural killer* (NK) - são essenciais e reconhecem os componentes da parede celular do microrganismo patogénico despoletando os mecanismos de defesa do hospedeiro. A parede celular externa do género *Candida* é constituída principalmente por mananos e manoproteínas ao passo que a parte interna é formada por quitina e  $\beta$ -(1, 3)-glucano (Kullberg, van de Veerdonk, & Netea, 2014; Vonk, Netea, van der Meer, & Kullberg, 2006).

Em conjunto com os receptores de lectina do tipo C (CLR), o domínio de oligomerização de nucleótidos (NOD) e receptores do tipo nucleótidos (NLR), os PRR têm uma função essencial na defesa do hospedeiro. Existem vários PRR descritos sendo que, de entre todos, os TLR foram os primeiros a ser descobertos; quando estes reconhecem um microrganismo patogénico vão dar início à produção de citocina pró-inflamatória. Por outro lado, os CLR desempenham um papel importante no reconhecimento do patogénico fúngico tanto através dos vários mananos de *Candida* spp. como através do  $\beta$ -(1, 3)-glucano; quando reconhecido o patogénico, os CLR vão induzir os mecanismos efectores antifúngicos. Os NLR têm o papel de activar os complexos de proteínas citoplasmáticas que estão envolvidos no processamento e activação de interleucina 1 $\beta$  e interleucina 18, quando induzidos por *Candida* spp. (Kullberg et al., 2014).

Quando na presença de uma infecção fúngica, o papel das células fagocíticas e dos neutrófilos polimorfonucleares é de extrema relevância. Como tal, quando o doente se apresenta neutropénico ou com defeitos na mobilização de neutrófilos a probabilidade de ocorrer uma infecção fúngica invasiva potencialmente fatal ou uma infecção mucocutânea é bastante elevada. Assim, quando existem defeitos nos

mecanismos que estão à responsabilidade dos fagócitos, isto é, na eliminação das células fúngicas através de mecanismos efectores oxidativos e não oxidativos, a probabilidade de o indivíduo desenvolver uma candidose invasiva é maior (Cutler, Deepe Jr, & Klein, 2007; Kullberg et al., 2014).

Em suma, no que diz respeito à imunidade inata, em presença de microrganismos fúngicos patogénicos irá ocorrer um reconhecimento por parte das PRR que irá levar à activação dos macrófagos e, deste modo, conduzir à produção de citocinas e quimiocitocinas que, por sua vez, irão activar os granulócitos e monócitos inflamatórios (Kullberg et al., 2014).

Por outro lado, depois de desencadeada a imunidade inata através do reconhecimento por parte dos PRR, a imunidade adquirida é conduzida e desenvolvida pelas células dendríticas que conferem memória ao longo da vida contra patogénicos e moldam a resposta das células T. Depois de activada a resposta das células T, são desencadeadas respostas por parte das células Th1, Th2, Th17 e T reguladoras. Enquanto as células Th1 protegem contra a infecção fúngica, as células Th2 aumentam a susceptibilidade do hospedeiro porém, é o mecanismo desempenhado pelas células Th17 que é considerado a mais importante via de protecção e que, quando com defeitos, está directamente ligado à susceptibilidade para infecções fúngicas mucocutâneas (Kullberg et al., 2014; Wüthrich et al., 2012).

## 2.4. Factores de risco

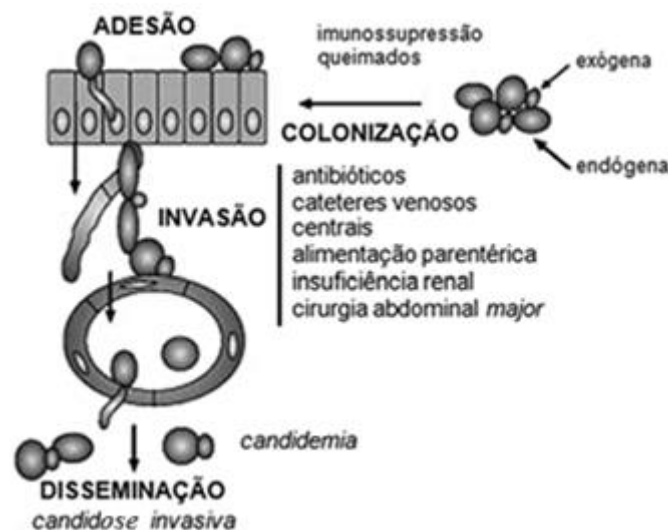
Relativamente à candidose, sobretudo a sua forma invasiva, são vários os factores ligados ao hospedeiro que facilitam o desenvolvimento da mesma, permitindo-nos prever um aumento do número de pacientes susceptíveis a este tipo de infecções (Tabela 3). Este aumento associado à dificuldade de diagnóstico e tratamento leva a que este tipo de infecção resulte num problema hospitalar emergente associado a uma elevada mortalidade (Kontoyiannis et al., 2003; Zaoutis et al., 2005).

**Tabela 3.** Factores de risco do hospedeiro para candidose invasiva (López-Martínez, 2010; Pappas et al., 2003; Spampinato & Leonardi, 2013; Sydnor & Perl, 2011; Tragiannidis, Tsoulas, & Groll, 2015)

Factores de risco de candidose invasiva
Tempo de internamento prolongado (principalmente na UCI)
Uso de antibioterapia de largo espectro e de antifúngicos
Cateter venoso central
VIH
Neutropenia
Má nutrição, nutrição parentérica e entérica, sonda vesical, ventilação mecânica
Prematuridade, baixo peso à nascença e idade avançada
Neoplasia hematológica (leucemia, linfoma e outros tipos)
Imunossupressão, quimioterapia, radioterapia e corticoterapia
Transplante de órgãos
Queimaduras
Insuficiência renal
Diabetes <i>mellitus</i>
Lesão das mucosas
Hemodiálise
Cirurgia prévia (principalmente cirurgia abdominal)

## 2.5. Transmissão

A infecção por *Candida* spp. pode dar-se através de duas vias: endógena ou exógena. A via endógena é o principal método de transmissão e ocorre quando há colonização do Homem por fragilidade do seu sistema imunitário. Neste caso, as espécies de *Candida* comensais tornam-se patogênicos oportunistas causando uma candidose local que pode evoluir para candidemia ou candidose invasiva. A via exógena deve-se sobretudo à falta de hábitos de higiene ocorrendo, principalmente, por propagação através das mãos de profissionais de saúde ou por contaminação de materiais médico-hospitalares (Figura 4) (Giolo & Svidzinski, 2010; Paramythiotou et al., 2014).



**Figura 4.** Fisiopatologia da Candidose Invasiva (Adaptada de Mendes, 2012)

## 2.6. Significado clínico

O género *Candida* pode originar um vasto leque de infecções, sejam elas do tipo mucocutâneo ou invasivo (Tabelas 4 e 5).

**Tabela 4.** Infecções mucocutâneas causadas por *Candida* spp. (Kasper et al., 2006; Wyngaarden, Smith, & Bennett, 1993)

Infecções mucocutâneas			
Infecção	Local	Características	Factores predisponentes
Candidose orofaríngea ou “sapinhos”	Língua, mucosa bucal, palato, cantos da boca (queilose), faringe	Placas brancas aderentes, cremosas delimitadas e exsudativas que, ao serem removidas, originam dor e sangramento	Prótese oral mal colocada
Esofagite	Esófago	Placas brancas e úlceras, eritematosas e com edemas; frequentemente assintomáticas podendo ocorrer odinofagia, disfagia ou dor torácica subesternal; quase nunca sangra	Candidose orofaríngea
Candidose gastrointestinal	Mucosa do estômago, intestino grosso ou intestino delgado		Doença cancerígena
Intertrigo	Pele quente e húmida (pregas, axilas, virilhas)	Placas eritematosas, exsudativas, bem delineadas, rodeadas por vesículas ou pústulas	Excesso de peso
Paroníquia	Base ou bordas das unhas	Tumefacção avermelhada, tensa e dolorosa	Diabetes e mexer muito em água
Vulvovaginite	Mucosa vaginal	Corrimento vaginal cremoso, espesso, lábios vulvares eritematosos e prurido intenso	Gravidez, antibioterapia e diabetes
Balanite	Glande peniana	Vesículas superficiais e placas exsudativas	Acto sexual
Cistite	Bexiga	Semelhante à candidose orofaríngea	Cateter urinário
Candidose mucocutânea crónica	Pele, mucosas, cabelo e unhas		Disfunção das células T ou endocrinopatia

**Tabela 5.** Infecções invasivas causadas por *Candida* spp. (Kasper et al., 2006; Wyngaarden et al., 1993)

Infecções invasivas			
Infecção	Local	Características	Factores predisponentes
Candidemia	Sangue	Febre, lesões cutâneas	Factores de risco na página 36
Lesões cutâneas por candidose invasiva	Tronco e membros	Papulopústulas ou macronódulos numa base eritematosa, bolhas hemorrágicas	
Candidose ocular	Qualquer estrutura ocular	Lesões coriorretinianas alonodosas, brancas que se estendem frequentemente para o humor vítreo; endoftalmite	
Candidose renal	Rins	Pielonefrite com abscessos corticais e medulares difusos	Cistite, candidemia
Candidose hepatoesplênica	Fígado e baço	Febre persistente inexplicável, dor espontânea e à palpação no hipocôndrio direito, níveis elevados de fosfatase alcalina e lesões em “olho de boi” múltiplas e disseminadas no fígado e no baço	Doenças cancerígenas como leucemia após neutropenia por quimioterapia; candidose gastrointestinal complicada por fungemia na veia porta
Candidose pulmonar	Árvore traqueobrônquica	Pneumonia	Doentes debilitados em estado grave na UCI
Candidose cardíaca	Coração	Miocardite, pericardite	Próteses cardíacas, abuso de fármacos intravenosos e uso prolongado de cateteres intravenosos centrais
Candidose do sistema nervoso central	Sistema nervoso central	Meningite, microabscessos intracerebrais, macroabscessos, pleocitose líquórica, hipoglicorraquia e níveis proteicos líquóricos elevados	
Candidose musculoesquelética	Músculos e ossos	Miosite, costochondrite, artrite e osteomielite	Fármacos intravenosos





### 3. Opções terapêuticas

---

#### 3.1. Prevenção

A prevenção com recurso a vacinas antifúngicas, à excepção de doenças fúngicas endémicas, é concebida principalmente para indivíduos imunocomprometidos para impedir uma doença fúngica visto que, neste grupo de doentes, a taxa de mortalidade e morbilidade é de extrema relevância. Porém, muitos doentes deste grupo de risco possuem problemas hematológicos ou cancerígenos e, por isso, necessitam de transplante ou terapia imunossupressora sendo, consequentemente, difícil de implementar uma estratégia de vacinação que não tenha uma janela demasiado estreita entre a vacinação bem sucedida e o iniciar de uma propagação de infecção fúngica (Cassone & Casadevall, 2012).

Para além dos indivíduos intitulados de imunocomprometidos, existem outras situações que, apesar de não colocarem os pacientes com um óbvio défice imunológico, colocam-nos em risco de vida e sujeitos a tratamento antifúngico. Neste grupo de indivíduos encontram-se pessoas que tenham lacunas nas suas defesas a nível cutâneo e mucosas como, por exemplo, com presença de cateteres venosos centrais permanentes ou um internamento prolongado com terapia intensiva. Por a candidemia se ter tornado num grave problema de saúde pública, nestas situações, a implementação de vacinação antifúngica também está a ser ponderada (Cassone & Casadevall, 2012).

##### 3.1.1. Vacinas

Apesar de toda a evolução na obtenção de vacinas, ainda hoje não existe nenhuma vacina contra infecções fúngicas devido aos diversos obstáculos que estas apresentam. De facto, a dificuldade de obtenção de uma vacina com boa qualidade e a ausência de mercado de massas devido ao elevado custo das investigações clínicas não

tem permitido uma evolução adequada ao contexto clínico actual (Cassone & Casadevall, 2012).

Contudo, o aumento das infecções fúngicas por parte de microrganismos oportunistas tem vindo a amplificar a necessidade médica e, deste modo, a elevar a atenção tanto de investigadores como da indústria farmacêutica para a obtenção de vacinas contra estes patógenos. Como resultado desta preocupação, o desenvolvimento destas vacinas nos últimos anos tem sido notável, principalmente no que diz respeito à *Candida* spp. (Cassone & Casadevall, 2012).

Porém, apesar dos avanços no desenvolvimento das vacinas para *Candida* spp., os estudos efectuados têm sido feitos apenas em ratinhos que, ao contrário dos humanos, são completamente susceptíveis ao fungo, isto é, não apresentam qualquer resistência à colonização por estes microrganismos, tornando os estudos pouco reais. Como tal, é cada vez mais desejável que os estudos pré-clínicos das vacinas direccionadas para *Candida* spp. sejam efectuados noutros modelos-animais como, por exemplo, primatas não-humanos visto que, estes apresentam um processo de colonização semelhante à que ocorre no Homem (Edwards, 2012).

São vários os benefícios e razões para o desenvolvimento de vacinas antifúngicas tais como, a disponibilidade de antígenos fúngicos seguros, o aumento dos factores de risco e diminuição dos recursos médicos, a elevada mortalidade e morbilidade especialmente em casos de candidemia, o potencial de mercado, o progresso científico imunológico, entres outros (Cassone & Casadevall, 2012).

O desenvolvimento de vacinas antifúngicas, neste momento, não tem como objectivo apenas prevenir os indivíduos imunocomprometidos contra doenças letais mas sim melhorar a sua qualidade de vida. Neste contexto, existe como exemplo a candidose vulvovaginal crónica e recorrente que, apesar de não ser uma infecção que ponha em risco as mulheres infectadas, pode diminuir bastante a sua qualidade de vida; como a sua taxa de incidência é bastante elevada, a criação de uma vacina é extremamente benéfica (Cassone & Casadevall, 2012).

### - Composição antigénica e formulação de vacinas

Ao longo do tempo têm sido várias as estratégias exploradas e desenvolvidas para a obtenção de uma vacina direccionada para *Candida* (Tabela 6) (Edwards, 2012).

**Tabela 6.** Várias estratégias exploradas para o desenvolvimento de vacinas contra candidose invasiva e candidose mucocutânea (Edwards, 2012)

Estratégias exploradas para o desenvolvimento de vacinas direccionadas para <i>Candida</i> spp. ao longo do tempo
Organismos completamente inactivos pelo calor
Organismos vivos atenuados
Enolase de <i>Candida</i> spp.
Receptores iC3b da superfície celular de <i>Candida</i> spp.
Mananos de <i>Candida</i> spp.
$\beta$ -glucanos
Choque térmico da proteína hsp90
Proteínas da família do gene <i>SAP</i>
Proteínas da família do gene <i>ALS</i>
Glicoconjugados (mananos e $\beta$ -glucanos)

- Estirpe completamente inactiva pelo calor

No que diz respeito às vacinas de células fúngicas inactivas, como estas apresentam uma composição química complexa, poder-se-á observar desvantagens ao nível da padronização e segurança para além de que, como se tratam de células inactivas, apresentam menor actividade isto é, originam respostas imunes mais fracas, quando comparadas com as vacinas vivas (Cassone & Casadevall, 2012).

- Estirpe viva atenuada de *Candida* spp.

As vacinas de células fúngicas de virulência atenuada são constituídas por imunogénicos potentes, porém, com a desvantagem que podem potenciar o desenvolvimento de doenças fúngicas em indivíduos com imunidade comprometida. Um exemplo deste tipo de vacinas é a tet-NRG1 que se trata de uma vacina viva atenuada proveniente de uma estirpe de *C. albicans* que actua através de um regulador negativo da filamentação de *Candida* spp. – o NRG1. Apesar dos resultados vantajosos, por se tratar de uma vacina viva atenuada, os estudos em humanos são de difícil aprovação (Cassone & Casadevall, 2012; Edwards, 2012).

- Subunidades

Parecem ser a escolha mais viável no que diz respeito ao fabrico, normalização, segurança, acesso e facilidade de ensaios clínicos; porém, como se tratam de imunogénicos fracos, normalmente existe a necessidade de serem administradas em conjunto com um adjuvante ou um sistema de entrega para que a imunidade seja duradoura (Tabela 7) (Cassone & Casadevall, 2012).

**Tabela 7.** Algumas estratégias para aumentar a actividade das vacinas para *Candida* spp. (Edwards, 2012)

Estratégias para aumentar a actividade das vacinas para <i>Candida</i> spp.
Adjuvantes
Sistemas de entrega nasal
Sistemas de entrega de partículas lipídicas
Entrega de ADN
Apresentação de célula dendrítica
Entrega de virossomas

Quando a estratégia para aumentar a actividade de uma vacina passa pela utilização de adjuvantes significa que a esta se adiciona matérias como hidróxido de alumínio, óleo de Freund, M59, endotoxinas, entre outros, que irão aumentar a intensidade da resposta imune e a sua duração, utilizando menores quantidades de antígenos e reduzindo os custos de produção. Os adjuvantes actuam através do aumento da actividade dos receptores imunológicos inatos, aumentando as respostas das células T (Reed, Orr, & Fox, 2013).

As restantes estratégias apresentadas na Tabela 7 são sistemas de entrega que têm como função aumentar a eficácia de entrega dos antígenos e/ou moléculas imunomodadoras. Uma das estratégias de sistemas de entrega mais utilizada são os virossomas (lipossomas que incluem proteínas virais). Nestes sistemas de vesículas à base de lípidos, que possuem na sua constituição moléculas que não estimulam o sistema imunitário, os antígenos e/ou moléculas imunomodadoras podem ser encapsuladas ou ligadas à superfície, fornecendo uma maior capacidade de entrega às células apresentadoras de antígenos (Reed et al., 2013).

#### *- Mecanismos das vacinas direccionadas para Candida*

Os principais mecanismos das vacinas direccionadas para *Candida* têm como base respostas imunitárias celulares a Th1 e/ou Th17 ou a imunidade mediada por anticorpos (Cassone & Casadevall, 2012; Hong Xin, Dziadek, Bundle, & Cutler, 2008).

Vacinas com imunidade mediada por anticorpos podem conferir protecção através da opsonofagocitose clássica e activação do complemento pela neutralização directa de factores de virulência como as adesinas ou as enzimas hidrolíticas, impedindo a evasão das células patogénicas aos mecanismos de defesa do hospedeiro, inibindo assim o seu crescimento, ou mesmo, matando a célula fúngica directamente (Cassone & Casadevall, 2012).

As vacinas com base directa em células Th17 ou com colaboração da resposta Th1 têm mostrado utilidade contra candidoses. Este tipo de vacinas vai activar os linfócitos T fazendo com que sejam segregadas citocinas que, por sua vez, irão activar

os macrófagos, desenvolvendo a formação de granulomas que irão conter ou até mesmo eliminar o microrganismo patogénico (Cassone & Casadevall, 2012; Hung, Gonzalez, Wüthrich, Klein, & Cole, 2011).

### - Vacinas em ensaio clínico

São poucas as vacinas anti-*Candida* que se encontram em desenvolvimento. Na Tabela 8 é possível encontrar as vacinas mais estudadas que são, efectivamente, direccionadas para candidose vulvovaginal recorrente.

**Tabela 8.** Vacinas mais estudadas contra candidose vulvovaginal recorrente (Adaptada de Cassone, 2014)

Vacina	Função biológica do antígeno	Actual estado clínico	Mecanismo de protecção
Als3p	Membro da maior família de adesinas da <i>C. albicans</i> ; envolvida na adesão ao epitélio e na formação de biofilmes	Fase II	Activação das células Th1/Th17
Sap2	Degradação/desvio dos factores imunológicos do hospedeiro; consistentemente envolvida na virulência	Fechado na Fase I	Neutralizador de virulência através de anticorpos neutralizantes de inflamação
$\beta$ -glucano-CRM conjugado	$\beta$ -glucano envolvido na estabilidade da célula fúngica patogénica; formação de biofilmes e mecanismos imunes de activação e inibição	Pré-clínico	Protecção devido a anticorpos anti- $\beta$ -glucano da classe IgG, inibição do crescimento e adesão
$\beta$ -manano e $\beta$ -manosídeo conjugados	Adesina, envolvido no desvio imunológico do hospedeiro	Pré-clínico	Anticorpos opsonizantes
HyR-1	Gene que codifica para a proteína glicosilfosfatidilinositol (GPI), resistindo à opsonofagocitose	Pré-clínico	Anticorpos neutralizantes

- NDV-3 (rAls3p-N)

Delineada para actuar contra infecções provocadas por *Candida* spp., especialmente contra candidose vulvovaginal, trata-se de uma vacina recombinante que actua contra a região N-terminal da sequência da proteína aglutinina-3 (Als3p) e que contém alúmen como adjuvante. A Als3p é uma adesina e uma proteína invasiva que permite, através da sua elevada afinidade para o substrato, a ligação da *Candida* spp. ao endotélio e epitélio do hospedeiro. É possível encontrar anticorpos anti-Als3p em indivíduos previamente colonizados ou infectados, o que irá facilitar a opsonofagocitose e o bloqueio da adesão fúngica visto que promove as respostas das células B e das células T após vacinação. Esta vacina encontra-se na Fase II dos ensaios clínicos sendo que, em alguns estudos, mostrou ser eficaz em infecções mucocutâneas e sistémicas provocadas tanto por *Candida* spp. como por *Staphylococcus aureus* (Cassone & Casadevall, 2012; Kullberg et al., 2014; Moriyama et al., 2014).

O seu desenvolvimento começou com estudos modelo. Um exemplo desses estudos foi feito através de ratinhos que foram imunizados com uma formulação de rAls3p-N subcutânea no dia 0 e um reforço no 2º dia. Após duas semanas, os ratinhos foram infectados com *C. albicans*. Após avaliação dos títulos de anticorpos séricos em ratinhos vacinados e ratinhos não vacinados, foi possível observar que os títulos de anticorpos no grupo vacinado foi significativamente maior assim como a sobrevivência ao 28º dia. Porém, estes resultados não foram suficientes para que se relacionasse o aumento de anticorpos após vacinação com a sobrevivência (Moriyama et al., 2014).

Depois de feitos os estudos modelo, a vacina NDV-3 passou para a Fase I através de um estudo duplo-cego controlado por pacientes saudáveis com placebo (n=40). O grupo de teste recebeu uma dose única de NDV-3 no dia 0 (30 µg ou 300 µg) e cerca de 60% dos indivíduos desse grupo receberam nova dose no dia 180. Após a vacinação foi possível observar um aumento dos títulos de anticorpos IgG e IgA1 quando comparados com os títulos do grupo placebo. Foi também possível observar um aumento da produção de interferão C e interleucina 17A o que leva a crer que, em seres humanos, as células T e B e os anticorpos são todos estimulados pela administração da vacina. De seguida foi feita a seroconversão (quadruplicação das concentrações pré-vacinais) e, no 7º dia, foi possível observar, com as doses administradas, 13% de



seroconversão para a dose de 30 µg e 53% para a dose de 300 µg. Ao 14º dia a seroconversão era de 100% para ambos os grupos. Quando feita a revacinação, esta resultou num aumento no título de anticorpos. Ultrapassada esta fase, a vacina NFV-3 encontra-se agora na Fase II (Edwards, 2012; Moriyama et al., 2014).

Concebida para administração via parental, no geral, foi bem tolerada tendo como efeitos adversos mais comuns a ligeira dor no local da injeção, fadiga e cefaleias, todos resolvidos passados poucos dias (Cassone, 2014; Moriyama et al., 2014).

- PEV7 (Sap2)

É uma vacina recombinante da proteína Sap2 numa formulação virossomal. A proteína Sap2 trata-se de uma aspartil proteinase secretória que tem como função promover a infecção fúngica por ter um efeito nocivo no tecido epitelial e no sistema imune do hospedeiro. A PEV7 está também direccionada para a prevenção de candidose vulvovaginal recorrente (Cassone, 2014; Edwards, 2012; Kullberg et al., 2014).

A vacina PEV7, que se encontra na Fase I dos ensaios clínicos, mostrou gerar anticorpos vaginais neutralizantes em mulheres em que estes se encontram ausentes ou em níveis baixos. O perfil de segurança inicial e os dados de imunogenicidade mostram que a PEV7 é bem tolerada e eficaz em doses baixas, o que representa um grande incentivo ao seu desenvolvimento (Cassone & Casadevall, 2012; Edwards, 2012).

- β-glucano-CRM conjugado

Através de um estudo investigacional tendo como animais-modelo murganhos foi possível demonstrar que uma vacina glicoconjugada com um polissacárido fúngico – o β-glucano – e a toxina da difteria – CRM197 – conferia protecção contra candidose vulvovaginal provocada por *C. albicans*. A vacina foi administrada intravaginalmente tendo como adjuvante óleo de Freund que não pode ser utilizado em humanos e a avaliação da protecção conferida pela vacina foi medida através da morte dos animais (Torosantucci et al., 2005).

Posteriormente, num estudo conduzido por Pietrella et al. (2009), a injeção da vacina também foi intravaginal porém, com um adjuvante compatível com humanos – o MF59. A protecção conferida pela mesma foi medida através da contagem de unidades formadoras de colónias (UFC) sob um método não invasivo para os animais. Deste modo, foi possível reavaliar a capacidade protectora da vacina e o seu mecanismo. Neste estudo também foi testado se seria possível uma administração parentérica de  $\beta$ -glucano-CRM-conjugado com MF59 de modo a que a protecção alcançada fosse mais forte e persistente. Após a análise dos resultados, foi possível confirmar que a protecção conferida pela vacina devia-se aos anticorpos específicos anti- $\beta$ -glucano da classe IgG, sendo essa protecção dependente do tempo, isto é, ao longo do tempo, os níveis de IgG no fluido vaginal também aumentam. Para além disso, foi também possível observar que, mesmo com administração parentérica, a concentração vaginal é alcançada.

○  $\beta$ -manano e  $\beta$ -manosídeo conjugados

Através de alguns estudos realizados em ratinhos foi possível demonstrar que anticorpos fixadores do complemento que reconhecem os hidratos de carbono da parede celular – mananos – de algumas espécies de *Candida* têm capacidade de proteger contra candidose invasiva e vulvovaginal. Porém, esta capacidade imunogénica só é obtida se o  $\beta$ -manano for conjugado. Essa conjugação foi feita através de péptidos da parede celular fúngica que serviram como transportadores de modo a aumentar a capacidade antigénica do  $\beta$ -manano. Outra estratégia antigénica é, para as espécies de *Candida* que não produzem  $\beta$ -manano, utilizar-se o  $\beta$ -manosídeo (Cutler et al., 2007; Xin et al., 2008).

Através do estudo efectuado por Xin et al. (2008), de maneira a aumentar o poder antigénico foram seleccionadas 6 proteínas transportadoras da parede de *C. albicans* que se encontram implicadas na patogénese humana: aldolase frutose-difosfato (FBA), metiltretahidropteroiltriglutamato (MET6), proteína-1 da parede de hifas (Hwp1), enolase, desidrogenase de gliceraldeído-3-fosfato (Gap1) e fosfogliceratoquinase (PGK1). Cada uma destas proteínas transportadoras foi conjugada com o  $\beta$ -manano. De seguida foram testadas as capacidades destes conjugados para prevenirem

candidose invasiva através de imunização de células dendríticas (componentes da imunidade inata que modelam a imunidade adquirida; capturam os antígenos, ativando de seguida os linfócitos T) e foi possível observar-se, em alguns conjugados, a produção de anticorpos tanto contra o  $\beta$ -manano como contra as proteínas transportadoras. Esta é uma observação vantajosa pois permite que haja uma dupla imunização. O estudo permitiu concluir que das proteínas transportadoras estudadas, tanto a Gap1 como a enolase não produziram imunidade (H. Xin & Cutler, 2011).

- rHyr1p-N

Trata-se de uma vacina recombinante. Actua na região N-terminal do gene *Hyr1* que codifica para a proteína GPI presente na superfície das espécies do género *Candida* e que tem como função resistir à opsonofagocitose (Moriyama et al., 2014).

Pertence ao grupo de vacinas de anticorpos neutralizantes e por isso, quando administrada juntamente com antígenos, permite o desenvolvimento de imunidade activa. Por também se administrarem anticorpos IgG, esta vacina também promove a imunidade através da via passiva (Cassone & Casadevall, 2012; Moriyama et al., 2014).

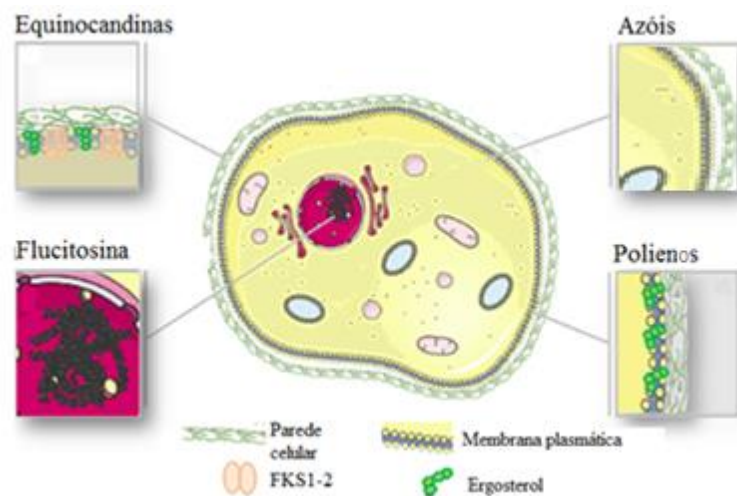
Num estudo modelo, ratinhos foram injectados subcutaneamente com rHyr1p-N no dia 0 e no dia 21. No dia 35, esses ratinhos foram infectados com *C. albicans*. A sobrevivência foi observada 35 dias após a infecção dos ratinhos e foi possível demonstrar que o grupo vacinado apresentava uma sobrevivência de 60% a 100% e que o grupo controlo apresentava uma sobrevivência de 0% (ratinhos infectados, não vacinados) (Moriyama et al., 2014).

### 3.2. Tratamento

O tratamento das infecções causadas por *Candida* spp. faz-se recorrendo ao uso de antifúngicos. Embora ainda haja uma escolha limitada, desde 1990 que tem havido uma descoberta crescente de componentes e classes antifúngicas tais como os polienos, azóis, equinocandinas e análogos de nucleósidos (Paramythiotou et al., 2014; Sardi et al., 2013).

Os objectivos principais do tratamento são interferir com a proliferação de *Candida* spp. e minimizar ou mesmo anular os factores favoráveis ao seu crescimento (López-Martínez, 2010; Zarrin & Mahmoudabadi, 2009).

Dependendo da classe a que cada antifúngico pertence, a estrutura em que este irá actuar na célula fúngica será diferente (Figura 5) (Sardi et al., 2013).



**Figura 5.** Alvos dos diferentes fármacos antifúngicos (Maubon, Garnaud, Calandra, Sanglard, & Cornet, 2014)

Quando se trata de uma doença invasiva causada por *Candida* spp. é essencial que o tratamento seja apropriado e iniciado o quanto antes de modo a reduzir a taxa de mortalidade, o tempo de permanência no hospital e os custos associados aos cuidados

de saúde (Ahmed, Azim, Baronia, Marak, & Gurjar, 2015; Alcazar-Fuoli & Mellado, 2014; Koehler et al., 2014).

Devido à elevada mortalidade causada pela candidemia e, como causa do atraso que ainda hoje existe no diagnóstico, existem neste momento algumas directrizes que preconizam que o uso de antifúngicos deve ser feito profilacticamente, isto é, quando estão presentes factores de risco que levem a uma maior preocupação, em casos de indivíduos colonizados ou presença de  $\beta$ -D-glucano em exames laboratoriais, embora não hajam manifestações clínicas de infecção ou, por último, em casos de terapêutica empírica, isto é, quando existe presença tanto de factores de risco como de febre de origem desconhecida, sendo este um sinal de infecção (Ahmed et al., 2015; Alcazar-Fuoli & Mellado, 2014; Maubon et al., 2014; Shoham & Marwaha, 2010).

Consequentemente, o uso excessivo e inapropriado de antifúngicos tanto no tratamento como na profilaxia, tem aumentado a resistência das espécies fúngicas ao tratamento. Este fenómeno de resistência pode ocorrer quer por uma interferência com o mecanismo de acção do fármaco como por uma diminuição da dose no alvo. O mecanismo de resistência pode ser primário ou secundário e está relacionado com características intrínsecas ou adquiridas pelo patogénico (Bruder-Nascimento et al., 2010; Sardi et al., 2013).

Outro factor a ter em conta na resistência aos antifúngicos é a capacidade destes organismos potencialmente patogénicos formarem biofilmes. Embora ainda não se saiba bem o porquê de a penetração do fármaco nos biofilmes ser mais complicada, pensa-se que seja por estes apresentarem uma matriz que irá limitar a sua penetração pela formação de uma barreira de difusão, fazendo com que o fármaco consiga atingir apenas as camadas mais superficiais desta estrutura (Sardi et al., 2013).

### 3.2.1. Antifúngicos

A escolha do antifúngico para um tratamento correcto deve basear-se no risco, nas co-morbilidades, na epidemiologia da espécie fúngica em questão, nas interacções,

no perfil farmacológico dos antifúngicos disponíveis e na história clínica do uso do antifúngico (Alcazar-Fuoli & Mellado, 2014).

Como referido anteriormente, actualmente encontram-se disponíveis para o tratamento quatro classes de antifúngicos: polienos, azóis, equinocandinas e análogos de nucleósidos (Tabela 9) (Maubon et al., 2014).

**Tabela 9.** Fármacos antifúngicos e seus alvos celulares (Adaptada de Cuenca-Estrella, 2010; Sardi et al., 2013)

Classe	Fármaco	Alvo	Actividade contra <i>Candida</i> spp.
Polienos	Anfotericina B	Ergosterol	Fungicida
Azóis	Fluconazol	Síntese de ergosterol	Fungistático
	Itraconazol		
	Voriconazol		
	Posaconazol		
Equinocandinas	Caspofungina	Síntese de $\beta$ -(1, 3)-D-glucano	Fungicida
	Micafungina		
	Anidulafungina		
Análogos de nucleósidos	Flucitosina	Síntese do ADN e ANR	Fungistático

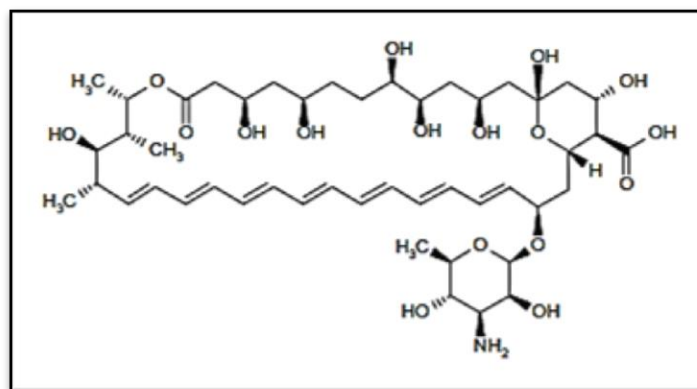
- *Polienos*:

Esta classe de antifúngicos, descoberta na década de 50 (século XX), é a classe mais antiga, da qual faz parte a anfotericina B (Figura 6). Até à descoberta dos azóis esta foi a única classe de fármacos antifúngicos disponível para o tratamento de infecções fúngicas invasivas (Ghannoum & Rice, 1999).

O mecanismo de acção tem como alvo a membrana citoplasmática, mais precisamente o ergosterol (esterol principal), fazendo com que haja um aumento da permeabilidade da membrana celular por produção de poros aquosos permitindo, assim,

a alteração do equilíbrio electrolítico. Estas alterações irão resultar na morte da célula fúngica (Spampinato & Leonardi, 2013; Paramythiotou et al., 2014).

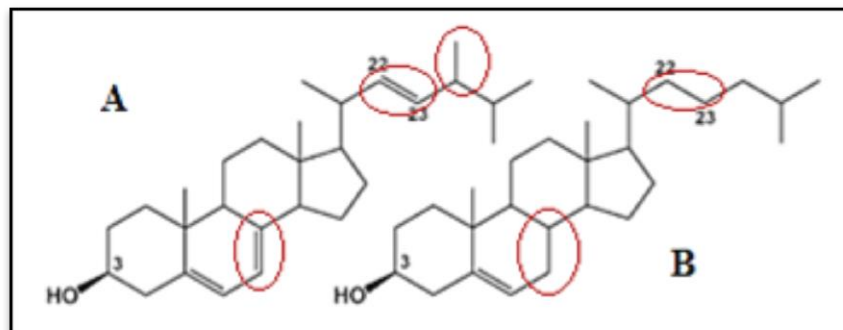
A anfotericina B apresenta actividade contra um vasto leque de géneros fúngicos. No que diz respeito à *Candida* spp., quase todas as espécies exibem susceptibilidade, à excepção de *C. guilliermondii* e de *C. lusitaniae*. A resistência fúngica adquirida é pouco observada neste fármaco salvo no caso de *C. glabrata* e de *C. krusei* em que, por estas apresentarem uma baixa susceptibilidade, as concentrações mínimas inibitórias (CMI) são bastante elevadas (Ahmed et al., 2015; Grossman, Chiller, & Lockhart, 2014; Paramythiotou et al., 2014).



**Figura 6.** Estrutura química da Anfotericina B (Retirada de Carrillo-Muñoz, Giusiano, Ezkurra, & Quindós, 2006)

Apesar das características vantajosas apresentadas acima, a anfotericina B também apresenta algumas desvantagens em que é preciso ter a máxima atenção tal como a sua estreita margem terapêutica. Por a estrutura química do colesterol do hospedeiro ser semelhante à do esterol do microrganismo (Figura 7), esta também irá actuar nas membranas celulares do hospedeiro desencadeando efeitos adversos significativos sendo a nefrotoxicidade o mais relevante. Assim, o seu uso é desaconselhado em conjunto com outros medicamentos que causem nefrotoxicidade. É ainda possível observar algumas reacções adversas aquando da perfusão tais como, febre, cefaleias, mialgias e calafrios que podem ser atenuadas se numa velocidade lenta de perfusão ou quando feito um pré-tratamento com acetaminofeno ou hidrocortisona

(Grossman et al., 2014; Kontoyiannis et al., 2003; Metcalf & Dockrell, 2007; Paramythiotou et al., 2014).



**Figura 7.** Diferenças entre a estrutura química do colesterol (A) e do esterol (B) (Adaptada de Neumann, Baginski, Winczewski, & Czub, 2013)

De modo a diminuir estas desvantagens – principalmente a nefrotoxicidade – e, consequentemente, aumentar a eficácia do tratamento e a segurança para o doente, foram desenvolvidas, a partir da anfotericina B, três formulações: anfotericina B lipossômica, complexo lipídico de anfotericina B e anfotericina B em dispersão coloidal; todas com diferenças farmacocinéticas entre elas e entre a própria anfotericina B. Todavia, as novas formulações de anfotericina B possuem como grande desvantagem o custo elevado, tornando o seu uso limitado (Kontoyiannis et al., 2003; Maubon et al., 2014; Metcalf & Dockrell, 2007; Paramythiotou et al., 2014).

No caso da anfotericina B lipossômica, a anfotericina B é incorporada em pequenos lipossomas unilamelares estabilizados por meio de colesterol. Estas estruturas permitem uma menor absorção da anfotericina B pelo sistema reticuloendotelial o que resulta na sua maior permanência na corrente sanguínea. O complexo lipídico de anfotericina B é composto por 50% de anfotericina B e 50% de complexo lipídico e a anfotericina B em dispersão coloidal é formada por um complexo estável com o sulfato de colesterol (Kontoyiannis et al., 2003).

Através de alguns estudos, já foi possível demonstrar que, apesar da tentativa de criar uma formulação de anfotericina B mais segura, ainda é possível observar alguns efeitos adversos tais como anemia e trombocitopenia, ambos dose-dependente, e



nefrotoxicidade e hepatotoxicidade. Não obstante, de entre as três formulações, a anfotericina B lipossômica é aquela que parece ser menos tóxica e, para além disso, possui a vantagem de demonstrar actividade contra biofilmes fúngicos o que faz com que seja a melhor escolha de entre as três formulações desenvolvidas a partir da anfotericina B (Koehler et al., 2014; Metcalf & Dockrell, 2007; Paramythiotou et al., 2014).

- *Azóis:*

É a classe de antifúngicos com maior número de fármacos, tendo sido introduzida pela primeira vez na prática clínica em 1990. Os triazóis (Fluconazol, Itraconazol, Voriconazol, Posaconazol) são os azóis mais usados em casos de candidemia, actuando como fungistáticos (Tabela 10) (Grossman et al., 2014; Kontoyiannis et al., 2003; Maubon et al., 2014; Spampinato & Leonardi, 2013).

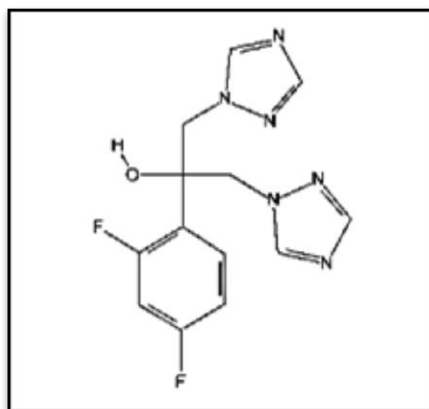
O seu mecanismo de acção consiste na inibição da enzima lanosterol 14- $\alpha$ -desmetilase, impedindo a biossíntese de ergosterol que, como já referido, se trata do estero principal da membrana citoplasmática fúngica, leva a alterações na permeabilidade da membrana e, consequentemente, à sua destruição. Para além disso, estudos recentes têm mostrado que os triazóis, através do bloqueio da biossíntese de ergosterol, podem alterar a síntese da parede celular visto que irão ocorrer modificações na actividade das proteínas de membrana observando-se, deste modo, respostas semelhantes às obtidas por antifúngicos que actuam nesta estrutura celular fúngica (Maubon et al., 2014; Paramythiotou et al., 2014; Spampinato & Leonardi, 2013).

### Fluconazol

À excepção de *C. glabrata* que apresenta baixa susceptibilidade e de *C. krusei* que é intrinsecamente resistente, o fluconazol é activo contra a maioria das espécies do

género *Candida* (Bruder-Nascimento et al., 2010; Kontoyiannis et al., 2003; Paramythiotou et al., 2014; Zarrin & Mahmoudabadi, 2009).

É uma molécula de baixo peso molecular, solúvel em água (Figura 8). A sua administração pode ser feita por via oral ou intravenosa (IV), apresentando um grande perfil de segurança. Apresenta mais de 90% de biodisponibilidade oral e a sua absorção não é afectada nem por alimentos nem pelo pH gástrico. Atinge o seu pico 1 a 2 horas após a ingestão e, por ter uma pequena ligação às proteínas plasmáticas, a maior parte do fármaco ingerido encontra-se livre em circulação. Quanto à sua eliminação, esta é feita maioritariamente pelos rins na forma não metabolizada e, por isso, a dose tem de ser reajustada em casos de doentes renais. Quando analisadas e comparadas as suas propriedades farmacocinéticas pelas duas vias de administração, é possível concluir que estas são independentes da mesma (Kontoyiannis et al., 2003; Paramythiotou et al., 2014; Spampinato & Leonardi, 2013).



**Figura 8.** Estrutura química do Fluconazol (Retirada de Zonios & Bennett, 2008)

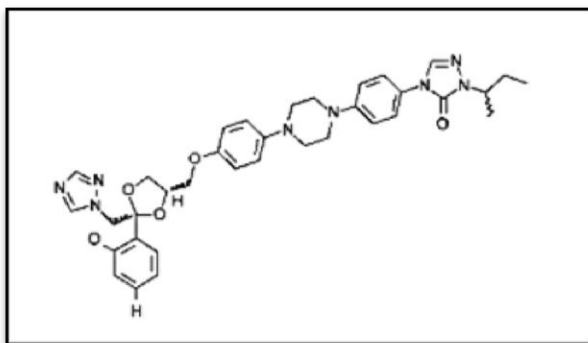
Tem como efeitos adversos principais o aumento assintomático das transaminases hepáticas e sintomas gastrointestinais. Pode originar também dermatite exfoliativa, falha hepática, prolongamento do intervalo QT e taquicardia ventricular, embora estes efeitos sejam raros (Paramythiotou et al., 2014; Shoham & Marwaha, 2010).

Apesar de ser dos antifúngicos mais prescritos pelo seu baixo custo, apresenta algumas interações que é preciso ter em atenção. A sua co-administração com a varfarina, ciclosporina, tacrolimus, carbamazepina e rifampicina faz com que estas aumentem as suas concentrações séricas. Por ser, tal como o fentanilo e o midazolam, metabolizado pela isoenzima CYP3A4 e 5, quando este é usado concomitantemente com um destes, faz com que tanto o fluconazol como o fentanilo e/ou o midazolam aumentem, por inibição competitiva, as suas concentrações séricas (Paramythiotou et al., 2014).

O seu uso é recomendado em doentes com candidose invasiva que não tenham sido medicados recentemente com antifúngicos da classe dos azóis, em doentes pouco críticos e não neutropénicos (Shoham & Marwaha, 2010).

#### Itraconazol

O itraconazol é uma molécula (Figura 9) em que a sua dissolução em água não é possível. Encontra-se disponível na forma parentérica e oral como cápsulas ou solução. Quando administrada por via oral apresenta alguns efeitos adversos gastrointestinais. Uma das limitações ao seu uso são as suas inúmeras interações com outros fármacos (Kontoyiannis et al., 2003; Paramythiotou et al., 2014).



**Figura 9.** Estrutura química do Itraconazol (Retirada de Zonios & Bennett, 2008)

Quanto às suas propriedades farmacocinéticas, o itraconazol atinge o seu pico, quando administrado por via oral, após 1,5 a 4 horas. Liga-se extensivamente às proteínas plasmáticas, a sua metabolização é hepática e a sua excreção biliar e renal na forma de metabolitos inactivos e, como tal, sem necessidade de reajuste de dose no caso de problemas renais. No entanto, a sua formulação IV não se encontra recomendada quando a depuração de creatinina ( $Cl_{cr}$ ) é inferior a 30 mL/min (Kontoyiannis et al., 2003; Metcalf & Dockrell, 2007).

Como o itraconazol inibe a enzima CYP3A4, este apresenta algumas interacções de alto risco e de máxima atenção como, por exemplo, com cisaprida, terfenadina e astemizol em que a sua co-administração é vetada devido ao risco de arritmias cardíacas graves ou com a metilprednisolona ou ciclosporina que pode levar à obtenção de níveis potencialmente tóxicos destes fármacos. Sabe-se também que o uso prolongado deste antifúngico pode levar a cardiomiopatia (Kontoyiannis et al., 2003).

No caso de infecções fúngicas invasivas, os níveis plasmáticos de itraconazol devem ser monitorizados dado a sua dificuldade em alcançar uma concentração plasmática adequada (Kontoyiannis et al., 2003).

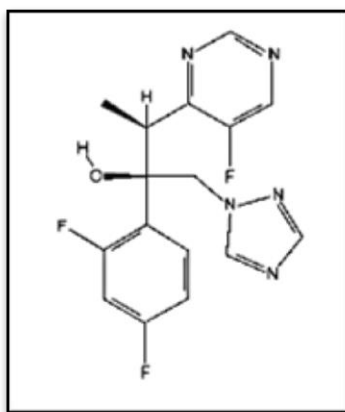
O itraconazol é usado como terapêutica de segunda linha em casos de intolerância à anfotericina B. A sua eficácia em condições de candidemia em pessoas severamente doentes ainda não está completamente provada (Kontoyiannis et al., 2003; Paramythiotou et al., 2014).

## Voriconazol

Introduzido na prática clínica pela primeira vez em 1995, o voriconazol é um derivado do fluconazol (Figura 10). É activo contra uma grande variedade de fungos incluindo todas as espécies de *Candida* (Kontoyiannis et al., 2003; Paramythiotou et al., 2014).

Apresenta-se disponível na forma IV e oral sendo que, esta última, apresenta uma biodisponibilidade elevada (> 90%), atingindo o seu pico após duas horas e tendo um tempo de semi-vida de aproximadamente seis horas. A sua metabolização é

realizada pelo fígado e a sua distribuição ocorre pela maioria dos tecidos, incluindo pelo sistema nervoso central. A via IV encontra-se contra-indicada em doentes com uma  $Cl_{cr} < 50$  mL/min ou a fazer hemodiálise pois ficam sujeitos a uma acumulação de ciclodextrina que é uma substância que actua como um veículo solvente que, em acumulação, torna-se potencialmente tóxica (Kontoyiannis et al., 2003; Metcalf & Dockrell, 2007; Paramythiotou et al., 2014; Spampinato & Leonardi, 2013).



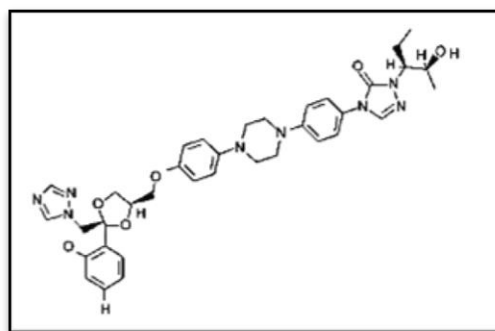
**Figura 10.** Estrutura química do Voriconazol (Retirada de Zonios & Bennett, 2008)

Exibe algumas reacções adversas tais como estados de confusão, alucinações, distúrbios visuais reversíveis, hepatite e erupções cutâneas. De modo a reduzir estes efeitos, é importante que se façam medições das concentrações séricas deste antifúngico que apresenta diversas variações nas suas concentrações consoante alguns factores como a idade do doente, as interacções que possam estar a acontecer, a existência ou não de doença hepática e polimorfismos no citocromo CYP 2C19 (Paramythiotou et al., 2014).

O voriconazol apresenta interacções com o omeprazol, fenitoína, varfarina, fentanilo e midazolam (Paramythiotou et al., 2014).

## Posaconazol

O posaconazol é um derivado do itraconazol que possui um largo espectro de acção sendo activo contra vários géneros fúngicos e, por isso, tornando-se mais vantajoso que os outros fármacos da sua classe. Encontra-se disponível apenas em suspensão oral pelo que o seu uso é limitado em casos graves (Figura 11) (Kontoyiannis et al., 2003; Metcalf & Dockrell, 2007; Paramythiotou et al., 2014; Spampinato & Leonardi, 2013).



**Figura 11.** Estrutura química do Posaconazol (Retirada de Zonios & Bennett, 2008)

Quanto às suas propriedades farmacocinéticas, o posaconazol é pouco solúvel em água, bem absorvido e com um tempo de semi-vida longo. O seu metabolismo hepático é limitado, sendo excretado grande parte pelas fezes na forma inalterada. Como inibe o funcionamento da enzima CYP 3A4, vai aumentar os níveis de fármacos como a ciclosporina, tacrolimus, sirolimus, anti-convulsionantes, algumas benzodiazepinas, bloqueadores dos canais de cálcio, alguns anti-retrovirais, entre outros. Quando administrado por um longo período de tempo pode apresentar efeitos adversos tais como desconforto gastrointestinal, cefaleias, erupção cutânea, elevação dos níveis da função hepática e prolongamento do intervalo QT (Metcalf & Dockrell, 2007).

Está indicado na prevenção de candidoses em doentes neutropénicos com leucemia (Paramythiotou et al., 2014).

**Tabela 10.** Resumo das principais diferenças farmacológicas entre os triazóis disponíveis na prática clínica (Kontoyiannis et al., 2003; Metcalf & Dockrell, 2007; Paramythiotou et al., 2014)

	Fluconazol	Itraconazol	Voriconazol	Posaconazol
Espectro de acção	Maioria das espécies de <i>Candida</i>	Similar ao fluconazol	Todas as espécies de <i>Candida</i>	Potente actividade contra todas as espécies de <i>Candida</i>
Biodisponibilidade	Oral: > 90%		Oral: > 90%	
Formulação	Oral e IV	Oral e IV	Oral e IV	Oral
<i>Clearance</i>	80% renal	Hepática via CYP 3A4	Hepática via CYP 3A4 e 2C19	90% excretado nas fezes
T <sub>1/2</sub> (h)	24	24-35	± 6	8-24
Penetração fluido cérebroespinal	Excelente	Fraca	Excelente	Fraca-moderada
Efeitos adversos	Erupção cutânea, náuseas, vômitos, aumento dos níveis de transaminases hepáticas	Erupção cutânea, náuseas, vômitos, diarreia, aumento dos níveis de transaminases hepáticas, insuficiência cardíaca congestiva	Erupção cutânea, náuseas, vômitos, distúrbios visuais transitórios, alucinações, estados de confusão, hepatite	Erupção cutânea, náuseas, vômitos, febre, cefaleias, elevação dos níveis da função hepática e prolongamento do intervalo QT
Interações	Varfarina, ciclosporina, tacrolimus, carbamazepina, rifampicina, fentanilo e midazolam	Cisaprida, terfenadina, astemizol, metilprednisolona e ciclosporina	Omeprazol, fenitoína, varfarina, fentanilo e midazolam	Ciclosporina, tacrolimus, sirolimus, anti-convulsivos, algumas benzodiazepinas, bloqueadores dos canais de cálcio, alguns anti-retrovirais
Contra-indicado quando Cl <sub>cr</sub> < 30 mL/min	Ajustar a dose	Oral – não IV – sim	Oral – não IV – sim	Não

## Novas moléculas de triazóis

Existem alguns triazóis em investigação como o ravuconazol, albaconazol e o isavuconazol. Todos apresentam um bom perfil farmacocinético e baixa toxicidade, apresentando alta actividade contra agente fúngicos resistentes e emergentes (Seyedmousavi, Verweij, & Mouton, 2015).

O ravuconazol assemelha-se com o fluconazol e o voriconazol. Encontra-se na Fase II dos ensaios clínicos tanto para formulação oral como IV, mostrando um espectro de actividade semelhante ao voriconazol com uma grande actividade *in vitro* contra *Candida* spp., mesmo em estirpes resistentes ao fluconazol. O seu tempo de semi-vida é maior quando comparado com os outros triazóis (72h a 202h). Através de um estudo efectuado em indivíduos saudáveis foi possível observar que as concentrações plasmáticas de ravuconazol são proporcionais à dose administrada porém, quando administradas doses muito elevadas, a absorção deste fármaco tornava-se reduzida, semelhante à encontrada na suspensão de posaconazol. A biodisponibilidade é bastante elevada, principalmente quando administrado com refeições de alto teor em gorduras. O primeiro estudo com ravuconazol mostrou eficácia contra candidose orofaríngea em doentes VIH-positivos (Allen, Wilson, Drew, & Perfect, 2015; Seyedmousavi et al., 2015).

O albaconazol encontra-se na Fase III dos ensaios clínicos. Tem apresentado uma grande actividade contra leveduras, como *Candida* spp., tanto *in vitro* como *in vivo*. As suas propriedades farmacocinéticas parecem ser melhores que as do fluconazol, com excelente biodisponibilidade oral e um perfil de efeitos adversos vantajoso visto que parece não apresentar efeitos sobre o intervalo QT como os restantes azóis. O seu tempo de semi-vida médio é de 79 h. Estudos efectuados em animais-modelo exibem eficácia contra candidose invasiva tendo também sido testado contra candidose vulvovaginal apresentando, nestes casos, uma taxa de sucesso de 91%. A sua maior desvantagem é a impossibilidade de administração IV, não sendo possível a sua utilização em casos de infecções fúngicas agudas (Allen et al., 2015; Moriyama et al., 2014; Seyedmousavi et al., 2015).

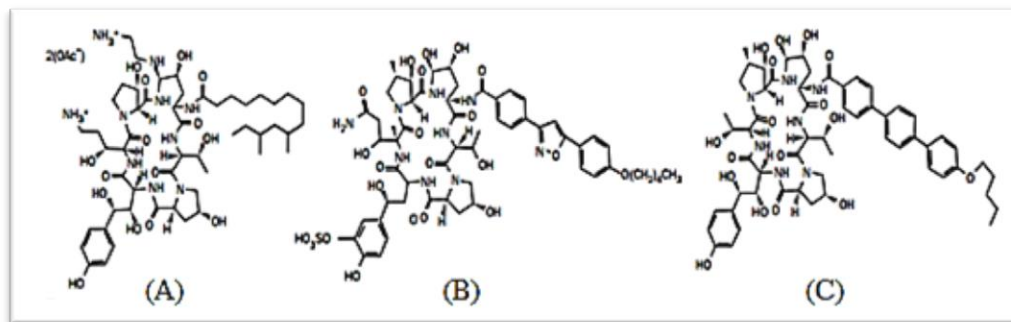


O pró-fármaco isavuconazonium de sulfato, obtido através do triazol isavuconazol, trata-se de uma molécula solúvel em água em desenvolvimento na Fase III para candidemia e candidose invasiva. Depois de administrado, é activo através de enzimas como esterases e degradado quimicamente, libertando o fármaco activo – isavuconazol. Apesar do seu mecanismo de acção ser semelhante ao dos outros triazóis, a sua actividade contra fungos resistentes aos triazóis é aumentada, mostrando actividade em casos de candidose invasiva por diferentes espécies de *Candida*. Através de alguns estudos elaborados em voluntários saudáveis e doentes neutropénicos, demonstrou-se que o isavuconazol pode ser administrado tanto por via IV como por via oral através de cápsulas de gelatina dura e que, pelas duas vias, apresenta uma excelente biodisponibilidade (> 99%) sem compromisso da alimentação ou pH gástrico. Apresenta um longo tempo de semi-vida (60h a 100h) e um elevado volume de distribuição. A via IV, ao contrário dos outros azóis, não necessita de adição de ciclodextrinas para aumentar a solubilidade e, por isso, pode ser administrada em doentes renais não havendo o risco de acumulação desse composto e, consequentemente, de nefrotoxicidade. As doses de administração devem ser reajustadas em doentes com a função hepática comprometida. Possui boa penetração no cérebro, fígado e humor vítreo. Quanto ao seu perfil de segurança, o isavuconazol mostrou poucos efeitos adversos graves apresentando dores abdominais leves, conjuntivite moderada, diarreia moderada, náuseas, vómitos, cefaleias, rinite moderada, nasofaringite e aumento dos níveis hepáticos. O isavuconazol é metabolizado hepaticamente pela isoenzima CYP 3A4 mostrando interações com rifampicina, ciclosporina, varfarina e tracolimus e a sua eliminação é fecal (Allen et al., 2015; McCormack, 2015; Seyedmousavi et al., 2015).

*- Equinocandinas:*

É a mais recente classe de antifúngicos tendo sido introduzida na prática clínica em 2001. É composta por lipopéptidos sintéticos derivados de fungos. Desta classe fazem parte a caspofungina, micafungina e anidulafungina (Figura 12) sendo que as diferenças encontradas entre estas são raras e pouco significativas (Tabela 11). Neste momento, devido a todas as suas características, já se encontram presentes nas

directrizes para o tratamento de candidemia como a primeira opção de tratamento (Cuenca-Estrella, 2010; Grossman et al., 2014; Metcalf & Dockrell, 2007; Paramythiotou et al., 2014; Shoham & Marwaha, 2010).



**Figura 12.** Estrutura química das equinocandinas. (A) – Caspofungina; (B) – Micafungina; (C) – Anidulafungina (Retirada de Denning, 2003)

**Tabela 11.** Diferenças farmacocinéticas entre equinocandinas (Adaptada de Bennett, 2006; Denning, 2003; Metcalf & Dockrell, 2007)

	Caspofungina	Micafungina	Anidulafungina
Metabolização	Metabolismo hepático		Não é metabolizada pelo fígado mas sofre biotransformação
Ajuste de dose	Ajuste de dose em doentes com insuficiência hepática significativa	Sem necessidade de ajuste de dose em caso de insuficiência renal ou hepática	
Interações	Fenitoína, carbamazepina, rifampicina, anti-retrovirais, dexametasona	Aumenta os níveis de sirolimus, ciclosporina e nifedipina	Aumenta os níveis de ciclosporina
Reações adversas	Febre, erupção cutânea, tromboflebite, cefaleias, eosinofilia, hipocalcemia, aumento de creatinina e aumento dos níveis da função hepática		
Influências	Farmacocinética influenciada pelo peso corporal		

Quanto à susceptibilidade esta é limitada actuando somente como fungicida para *Candida* spp. e como fungistático para *Aspergillus* sp.. Sabe-se ainda que apresenta actividade contra biofilmes formados por este tipo de células (Grossman et al., 2014; Koehler et al., 2014; Paramythiotou et al., 2014).

O seu mecanismo de acção consiste na inibição não competitiva da síntese do polissacarído  $\beta$ -(1, 3)-D-glucano que tem como função a síntese da parede celular, mantendo a sua integridade. Deste modo, vai aumentar a vulnerabilidade à lise osmótica levando, por fim, à morte da célula fúngica. A capacidade das equinocandinas actuarem na parede celular torna estes antifúngicos bastante vantajosos, uma vez que, por as células animais não apresentarem esta estrutura, o risco de efeitos adversos será menor. Pelo mesmo motivo, também são úteis em casos de resistência aos antifúngicos que actuam na membrana celular (Grossman et al., 2014; Maubon et al., 2014; Paramythiotou et al., 2014; Spampinato & Leonardi, 2013).

Os antifúngicos pertencentes a esta classe só podem ser administrados por via IV segundo uma taxa de perfusão lenta de modo a evitar as, embora raras, reacções adversas. O seu metabolismo é realizado pelo fígado e as suas doses não são afectadas pela função renal. As suas concentrações séricas podem ser doseadas diariamente visto que esta classe de antifúngicos possui um tempo de semi-vida elevado que se encontra entre 10 a 12 horas (Kontoyiannis et al., 2003; Paramythiotou et al., 2014; Shoham & Marwaha, 2010; Spampinato & Leonardi, 2013).

A sua utilização, na União Europeia e Estados Unidos, está indicado no tratamento da candidose invasiva e, em alguns casos, como profilaxia. Estão recomendadas em pacientes neutropénicos e em pacientes com febre persistente. Como apresentam baixas concentrações no compartimento intra-ocular e no fluido cérebroespinal e não possuem excreção renal, o seu uso em casos candidose nestes locais ou de candidúria (infecção urinária produzida pelo género *Candida*) não é recomendado (Grossman et al., 2014; Paramythiotou et al., 2014; Shoham & Marwaha, 2010; Spampinato & Leonardi, 2013).

Apesar de raros, os efeitos adversos relacionados com esta classe são as flebites, os testes de função hepática alterados e as reacções de hipersensibilidade. No que diz respeito às interacções com os outros fármacos, estas são escassas principalmente por

parte da micafungina e anidulafungina (Koehler et al., 2014; Paramythiotou et al., 2014).

Quando comparadas com o fluconazol, encontra-se a maior vantagem do seu uso pois, por ser fungicida, exibe uma resolução dos sintomas mais rápida e com muito menos complicações. A maior desvantagem é o seu custo elevado (Laupland et al., 2005; Paramythiotou et al., 2014).

Neste momento, as resistências apresentadas a esta classe de antifúngicos ainda são raras variando apenas entre 0% e 1%. No entanto, o seu crescente uso tem levantado algumas preocupações. De entre todas as espécies de *Candida*, *C. glabrata* é aquela que requer maior atenção visto que já foi possível observar alguns casos de resistência por parte desta a esta classe de antifúngicos (Grossman et al., 2014; Paramythiotou et al., 2014).

Devido às preocupações que as resistências às equinocandinas levantam, têm sido desenvolvidas novas moléculas para o tratamento de estirpes resistentes. O SCY-078 é um exemplo. É um derivado semi-sintético, em desenvolvimento, da enfumafungina que pode ser administrado por via oral ou parentérica. Dados disponíveis sugerem um tempo de semi-vida de 20 h e efeitos adversos como cefaleias, diarreia, dores abdominais em doses elevadas e câibras. Através de um estudo *in vitro* efectuado com 113 isolados de *Candida* spp., o SCY-078 mostrou CMIs semelhantes às da caspofungina para *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. albicans* e *C. krusei* e CMIs inferiores para *C. glabrata*. O SCY-078 mostrou actividade em 32 das 34 estirpes resistentes ao fluconazol e em 22 dos 31 isolados com resistência às equinocandinas mostrando-se, por isso, bastante vantajoso (Lepak, Marchillo, & Andes, 2015; Moriyama et al., 2014).

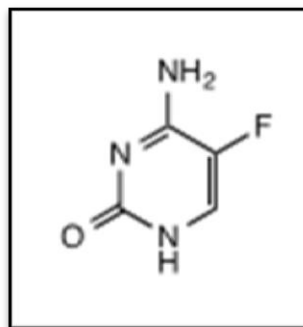
Outra molécula em desenvolvimento para os casos de resistência às equinocandinas é a T-2307. Trata-se de uma arilamidina que actua destruindo o potencial de membrana das mitocôndrias. O T-2307 tem mostrado actividade *in vitro* contra o género *Candida* inclusive para estirpes de *C. albicans* e *C. glabrata* resistentes às equinocandinas, com CMIs menores que a caspofungina, mesmo nas estirpes sensíveis a esta, exibindo um tempo de sobrevivência maior. Estudos *in vivo* elaborados em ratinhos mostram actividade em casos de candidose invasiva (Wiederhold et al., 2015).

*- Análogos de nucleósidos:*

Neste momento, dentro desta classe antifúngica, apenas a flucitosina – análogo de pirimidina - se apresenta disponível na prática clínica apesar de se encontrar cada vez mais em desuso (Cuenca-Estrella, 2010).

A flucitosina actua como fungistática entrando na célula fúngica através de citosina permease e, de seguida, convertendo-se em 5-fluorouracilo. O 5-FU, por sua vez, vai inibir a enzima timidilato-sintetase e, consequentemente, interferir na síntese de ADN e ARN (Cuenca-Estrella, 2010; Maubon et al., 2014; Spampinato & Leonardi, 2013).

A flucitosina é uma molécula que pode ser administrada na forma oral ou na forma IV (Figura 13). Por ser bastante tóxica e ter a capacidade de desenvolver resistências bastante rápido, a sua utilização é, por norma, concomitante com a anfotericina B (Dodds Ashley, Lewis, Lewis, Martin, & Andes, 2006; Paramythiotou et al., 2014).



**Figura 13.** Estrutura química da Flucitosina (Retirada de Hitchcock, Fedorov, Fedorov, Almo, & Raushel, 2014)

Apesar de cada vez menos utilizado, este antifúngico continua indicado em casos especiais de candidose invasiva tais como, endocardites, meningites ou candidoses do tracto urinário (Dodds Ashley et al., 2006; Paramythiotou et al., 2014).

## A escolha do antifúngico correcto

Quando o clínico se depara com a escolha de um antifúngico, não pode ter apenas em conta o seu espectro de actividade mas também um vasto rol de factores tais como as vias de administração, a eliminação do fármaco, a função renal e hepática, o acesso intravenoso, antecedentes de exposição à terapêutica antifúngica, intolerância ao agente antifúngico, entre outros. Como tal, é necessário que este tenha em atenção as propriedades farmacocinéticas do antifúngico isto é, a sua absorção, distribuição, metabolismo e excreção (Tabela 12) (Dodds Ashley et al., 2006; Moriyama et al., 2014).

**Tabela 12.** Vias de administração e parâmetros farmacocinéticos dos diferentes fármacos antifúngicos existentes na prática clínica (adaptada de Dodds Ashley et al., 2006; Paramythiotou et al., 2014; Spampinato & Leonardi, 2013)

Classe	Azóis				Equinocandinas			Polie- nos	Análogos de nucleósi- dos
Fármaco	FCZ	ITZ	VCZ	PCZ	CAS	MICA	ANID	AMB	Fluc
Adm.	IV e oral			Oral	IV			IV	Oral
Bio. oral (%)	>90	>55	>90	>98	<5			<5	76-89
C <sub>máx</sub> (µg/mL)	0.7	1.1	4.6	7.8	9.5- 12.1	7.1- 10.9	3.4-7.5	1.5-2.1	80
Lig. a pp (%)	10- 12	99.8	60.0	99.0	96.0	99.8	84.0	>95	4
T <sub>1/2</sub> (h)	27- 31	21-64	6	15-35	10.6	11-17	18.1- 25.6	60.8-50	3-6
Elimina- ção	Uri	Hep	Renal	Fezes	Uri	Fezes		Fezes	Renal

**Continuação Tabela 12.** Vias de administração e parâmetros farmacocinéticos dos diferentes fármacos antifúngicos existentes na prática clínica

Ajuste renal	Sim	Não	IV não administrado quando Clcr < 50 mL/min	Não quando insuficiência renal leve a moderada	Não	Não	Sim
Ajuste hepático	Não		Diminuir dose em caso de cirrose leve a moderada	Não	Diminuir dose em caso de insuficiência moderada	Não	Não

FCZ – Fluconazol; ITZ – Itraconazol; VCZ – Voriconazol; PCZ – Posaconazol; CAS – Caspofungina; MICA – Micafungina; ANID – Anidulafungina; AMB – Anfotericina B; Fluc – Flucitosina; Adm. – administração; Bio. oral – biodisponibilidade oral; Cmáx – concentração máxima; T1/2 – tempo de semi-vida; Uri – urina; Hep - hepática

Para além das propriedades farmacocinéticas, um dos factores de bastante importância, cuja observação é indispensável, é a resistência dos microrganismos aos antifúngicos. Apesar da resistência aos antifúngicos por parte de *Candida* spp. não ser considerada tão problemática como no caso de outros géneros, com o aumento na falha dos tratamentos este facto tem vindo a ser alterado. A resistência de *Candida* às equinocandinas e aos azóis tem amplificado a preocupação por um tratamento eficaz visto que o número de doentes com infecções fúngicas por *Candida* tem aumentado e, contrariamente, o número de moléculas antifúngicas continua a ser insuficiente (Maubon et al., 2014).

A resistência pode ser dividida em dois grupos: resistência microbiológica e resistência clínica. A resistência microbiológica ocorre quando o fungo possui um mecanismo de resistência adquirido ou intrínseco ao fármaco. Tratando-se de resistência intrínseca ou primária, os microrganismos são resistentes a um fármaco ao qual ainda

não foram expostos; quando se trata de resistência adquirida ou secundária significa que já ocorreu uma exposição prévia ao fármaco que despoletou um mecanismo de resistência. O segundo grupo de resistência é denominado por resistência clínica. Existem três termos que se podem utilizar para definir a resistência clínica, isto é, a falha ou o sucesso terapêutico: susceptível, intermédio ou resistente. Um microrganismo susceptível significa que, com o tratamento adequado, este consegue ser combatido. Por outro lado, um microrganismo de susceptibilidade intermédia é aquele que, mesmo quando combatido com o antifúngico correcto, o seu efeito terapêutico não é certo. Por fim, microrganismo resistente é aquele que consegue resistir ao fármaco, mesmo que este seja o apropriado, continuando a causar infecção fúngica (Alcazar-Fuoli & Mellado, 2014).

No que diz respeito ao género *Candida*, já existem algumas resistências documentadas e estas, cada vez mais, têm vindo a aumentar. Por exemplo, sabe-se que, apesar de *C. albicans* quase não apresentar resistências, outras espécies não-*albicans* como *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *Candida sake*, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae* e *C. pelliculosa* têm mostrado um aumento das resistências, inclusive ao fluconazol que é um antifúngico de sucesso contra a maioria das espécies de *Candida*. Quanto às equinocandinas, a resistência tem-se mantido baixa (Tabela 13) (Alcazar-Fuoli & Mellado, 2014).



**Tabela 13.** Espectro de actividade *in vitro* dos antifúngicos contra *Candida* spp. (adaptada de Paramythiotou et al., 2014; Tragiannidis et al., 2015)

Organismo	AMB	lipAmB	FCZ	ITZ	VCZ	PCZ	CAS	MICA	ANID	Fluc
<i>C. albicans</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>C. glabrata</i>	S-I	S	S-Sdd-R	S-I	S-I	S-I	S	S	S	S
<i>C. parapsilosis</i>	S	S	S	S	S	S	S-I	S-I	S-I	S
<i>C. tropicalis</i>	S		S	S	S	S	S	S	S	
<i>C. krusei</i>	S-I		R	I-R	S-I	S-I	S	S	S	
<i>C. lusitaniae</i>	S-R		S	S	S	S	S	S	S	
<i>C. guilliermondii</i>	S		S	S	S	S	R	R	R	

AMB – Anfotericina B; lipAmB – anfotericina B lipossómica; FCZ – Fluconazol; ITZ – Itraconazol; VCZ – Voriconazol; PCZ – Posaconazol; CAS – Caspofungina; MICA – Micafungina; ANID – Anidulafungina; Fluc – Flucitosina; S – sensível; R – resistente; I – intermédio; Sdd – sensível dependente da dose

Assim, de acordo com todas as características tanto do antifúngico como do paciente, é possível determinar esquemas que facilitem a escolha empírica do fármaco de acordo com a indicação clínica em questão (Tabela 14) (Moriyama et al., 2014).

**Tabela 14.** Esquemas terapêuticos segundo a IDSA e a FDA (Moriyama et al., 2014; Pappas et al., 2009)

Classe	Fármaco	Indicações pela IDSA	Indicações pela FDA
Azóis	Fluconazol	Candidemia em adultos não neutropénicos: primeira dose de 800 mg [12 mg / kg] IV, seguida de 400 mg [6 mg / kg] IV diários	Tratamento de candidemia, candidose invasiva, pneumonia, infecções do tracto urinário devido a <i>Candida</i> spp., peritonite, candidose orofaríngea e esofágica; profilaxia de candidose em pacientes submetidos a transplantes ósseos
	Voriconazol		Candidemia em pacientes não neutropénicos e candidose invasiva na pele, abdómen, rins, parede da bexiga, feridas, candidose esofágica

Continuação Tabela 14. Esquemas terapêuticos segundo a IDSA e a FDA

Polienos	Anfotericina B	Em caso de intolerância aos outros fármacos antifúngicos: 0,5-1 mg / kg IV ao dia	Tratamento de candidose invasiva
	Complexo lipídico de Anfotericina B	Em caso de intolerância aos outros fármacos antifúngicos: 3-5 mg / kg IV ao dia	Tratamento de infecções fúngicas invasivas em doentes intolerantes à anfotericina B
	Anfotericina B lipossomal		Tratamento de candidose em doentes que não reagem à anfotericina B ou em doentes com comprometimento da função renal; terapia empírica quando suspeita de infecção fúngica com febre neutropénica
Equinocandinas	Anidulafungina	Candidemia em adultos não neutropénicos com exposição recente a azóis: primeira dose de 200 mg IV seguida de 100 mg IV diários	Candidemia, peritonite e abscessos intra-abdominais devido a <i>Candida</i> spp., candidose esofágica
	Caspofungina	Candidemia em adultos não neutropénicos com exposição recente a azóis: primeira dose de 70 mg IV, seguida de 50 mg IV diários	Tratamento de candidemia, peritonite e abscessos intra-abdominais devido a <i>Candida</i> spp., infecção do espaço pleural, candidose esofágica; terapia empírica na suspeita de infecção fúngica com febre neutropénica
	Micafungina	Candidemia em adultos não neutropénicos com exposição recente a azóis: 100 mg IV por dia	Tratamento de candidemia, candidose invasiva aguda, candidose esofágica, peritonite e abscessos devido a <i>Candida</i> spp.; profilaxia de infecções por <i>Candida</i> spp. em doentes submetidos a transplantação de células estaminais hematopoéticas

FDA – Food and Drug Administration; IDSA – Infectious Diseases Society of America

Para além do exposto, o tratamento com recurso a antifúngicos é demorado e deve ser mantido pelo menos 14 dias após a última avaliação microbiológica positiva. Este tempo pode ser alterado consoante o órgão afectado e o curso da doença aquando do tratamento (Koehler et al., 2014; Moriyama et al., 2014).



## 4. Conclusão

---

A emergência das infecções fúngicas, cada vez mais é considerada um problema de saúde pública. As leveduras do género *Candida*, por poderem viver como comensais no nosso organismo e por conseguirem tornar-se patogénicas quando existe um desequilíbrio no sistema imunitário do hospedeiro, constituem uma das maiores preocupações ao nível de infecções fúngicas.

Grande parte das infecções por *Candida* são nosocomiais, com maior prevalência na UCI e estão ligadas à falta de higiene ou à utilização de cateteres. Por outro lado, os avanços na área da saúde e na tecnologia têm também aumentado os grupos de risco associados a candidemia e candidose invasiva.

Epidemiologicamente, o género *Candida* é constituído por espécies difíceis de estudar visto que a sua incidência varia muito com a região e até mesmo com a idade do doente e as suas doenças subjacentes. No entanto, a espécie de maior distribuição mundial continua a ser *C. albicans*.

A capacidade de uma espécie de *Candida* infectar o Homem depende da sua patogenicidade. Essa patogenicidade resulta do balanço entre os factores de virulência tais como a adesão, formação de biofilmes, produção de enzimas hidrolíticas e morfogénese e os mecanismos de defesa do hospedeiro inatos ou adquiridos. A formação de biofilmes é talvez dos maiores problemas a nível de patogenicidade visto que estes diminuem a eficácia da penetração dos fármacos antifúngicos no microrganismo patogénico, tornando-se mais difícil combater a infecção.

Assim, pode-se afirmar que as espécies de *Candida* são capazes de originar infecções tanto invasivas como mucocutâneas, podendo estas últimas ser ainda agudas ou crónicas. Quando na presença de uma candidose, principalmente invasiva, o tratamento atempado e adequado é essencial para diminuir a probabilidade de mortalidade. Os objectivos principais do tratamento são interferir com a proliferação de *Candida* spp. e minimizar ou mesmo anular os factores favoráveis ao seu crescimento. Para isso, existem neste momento na prática clínica quatro classes de antifúngicos

disponíveis para combater espécies do género *Candida*, sendo elas os azóis (Fluconazol, Itraconazol, Voriconazol e Posaconazol), os polienos (Anfotericina B e seus derivados), as equinocandinas (Caspofungina, Micafungina e Anidulafungina) e os análogos de nucleósidos (Flucitosina). Cada uma destas classes é distinguida pelo seu mecanismo de acção e, consequentemente, pelos seus efeitos adversos, interações e perfil farmacocinético. Analisando estes factores e também as características ligadas ao doente tais como, as suas co-morbilidades e a infecção a que este está sujeito, é possível preconizar directrizes que ajudem a uma escolha melhor do antifúngico.

Para além do escasso arsenal de antifúngicos, também o aparecimento de resistências por parte de *Candida* spp., cada vez mais tem-se tornado uma preocupação. Por isso mesmo, têm sido efectuados estudos que possibilitam o desenvolvimento de novas moléculas antifúngicas capazes de combater estirpes de *Candida* resistentes, principalmente, aos azóis e às equinocandinas.

Como este tipo de infecção tem uma taxa de mortalidade elevada, mais que um tratamento, o ideal será encontrar um método de prevenção tal como a utilização de vacinas. Porém, o desenvolvimento de vacinas anti-*Candida* é de extrema dificuldade devido a vários factores tais como, encontrar um animal-modelo que se assemelhe ao ser humano no que diz respeito à flora comensal ou criar uma vacina que, num indivíduo imunocomprometido, não acabe por o infectar ao invés de o prevenir. Neste momento encontram-se cinco vacinas em desenvolvimento, porém, ainda nenhuma é comercializada. No entanto, essas vacinas são principalmente direccionadas para a prevenção de candidose vulvovaginal recorrente e não contra candidemia ou candidose invasiva que, acima de tudo, é actualmente, a principal preocupação.

Perante o exposto, é essencial que os estudos continuem, com vista ao desenvolvimento de uma vacina eficaz na prevenção da candidemia e candidose invasiva em indivíduos imunocomprometidos e, quem sabe, futuramente até encontrar uma vacina antifúngica contra mais que um microrganismo.

## 5. Bibliografia

---

- Ahmed, A., Azim, A., Baronia, A., Marak, R. K. e Gurjar, M. (2015). Invasive candidiasis in non neutropenic critically ill - need for region-specific management guidelines. *Indian Journal of Critical Care Medicine*, 19(6), 333. doi:10.4103/0972-5229.158273
- Alcazar-Fuoli, L. e Mellado, E. (2014). Current status of antifungal resistance and its impact on clinical practice. *British Journal of Haematology*, 166(4), 471–484. doi:10.1111/bjh.12896
- Allen, D., Wilson, D., Drew, R. e Perfect, J. (2015). Azole antifungals: 35 years of invasive fungal infection management. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 13(6), 787–98. doi:10.1586/14787210.2015.1032939
- Bedout, C. e Gomez, B. (2010). Candida y candidiasis invasora : un reto continuo para su diagnóstico temprano. *Scielo*, 14(94), 159–171. doi:10.1016/S0123-9392(10)70133-8
- Ben-Ami, R. e Denning, D. W. (2015). Estimating the burden of fungal diseases in Israel, 17.
- Bennett, J. E. (2006). Echinocandins for candidemia in adults without neutropenia. *The New England Journal of Medicine*, 355, 1154–1159. doi:10.1056/NEJMct060052
- Bruder-Nascimento, A., Camargo, C. H., Sugizaki, M. F., Sadatsune, T., Montelli, A. C., Mondelli, A. L. e Bagagli, E. (2010). Species distribution and susceptibility profile of Candida species in a Brazilian public tertiary hospital. *BMC Research Notes*, 3, 1. doi:10.1186/1756-0500-3-1
- Butler, G., Rasmussen, M. D., Lin, M. F., Santos, M. A. S., Sakthikumar, S., Munro, C. a, ... Cuomo, C. A. (2009). Evolution of pathogenicity and sexual reproduction in eight Candida genomes. *Nature*, 459(7247), 657–662. doi:10.1038/nature08064
- Calderone, R. A. e Fonzi, W. A. (2001). Virulence factors of Candida albicans. *Trends in Microbiology*, 9(7), 327–335. doi:10.1016/S0966-842X(01)02094-7

- Carrillo-Muñoz, A. J., Giusiano, G., Ezkurra, P. A. e Quindós, G. (2006). Antifungal agents: Mode of action in yeast cells. *Rev Esp Quimioterap*, 19(2), 130–139.
- Cassone, A. (2014). Vulvovaginal *Candida albicans* infections: pathogenesis, immunity and vaccine prospects. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 122(6), 785–794. doi:10.1111/1471-0528.12994
- Cassone, A. e Casadevall, A. (2012). Recent progress in vaccines against fungal diseases. *Current Opinion in Microbiology*, 15(4), 427–433. doi:10.1016/j.mib.2012.04.004
- Chandra, J., Kuhn, D. M., Mukherjee, P. K., Hoyer, L. L., McCormick, T., Mahmoud, A., ... Ghannoum, M. A. (2001). Biofilm Formation by the Fungal Pathogen *Candida albicans*: Development, Architecture, and Drug Resistance. *Journal of Bacteriology*, 183(18):53(18), 5385–5394. doi:10.1128/JB.183.18.5385
- Cuenca-Estrella, M. (2010). Antifúngicos en el tratamiento de las infecciones sistémicas: Importancia del mecanismo de acción, espectro de actividad y resistencias. *Revista Espanola de Quimioterapia*, 23(4), 169–176.
- Cutler, J. E., Deepe Jr, G. S. e Klein, B. S. (2007). Advances in combating fungal diseases: vaccines on the threshold, 5(1), 13–28.
- Davey, M. E. e O'toole, G. A. (2000). Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 64(4), 847–67. doi:10.1128/MMBR.64.4.847-867.2000
- Denning, D. W. (2003). Echinocandin antifungal drugs. *Lancet*, 362(9390), 1142–1151. doi:10.1016/S0140-6736(03)14472-8
- Dodds Ashley, E. S., Lewis, R., Lewis, J. S., Martin, C. e Andes, D. (2006). Pharmacology of Systemic Antifungal Agents. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 43(S1), S28–S39. doi:10.1086/504492
- Edwards, J. E. (2012). Fungal cell wall vaccines: an update. *Journal of Medical Microbiology*, 61(PART7), 895–903. doi:10.1099/jmm.0.041665-0
- Faria-Ramos, I., Neves-Maia, J., Ricardo, E., Santos-Antunes, J., Silva, A. T., Costa-de-Oliveira, S., ... Pina-Vaz, C. (2014). Species distribution and in vitro antifungal

- susceptibility profiles of yeast isolates from invasive infections during a Portuguese multicenter survey. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 33(12), 2241–2247. doi:10.1007/s10096-014-2194-8
- Finkel, J. S. e Mitchell, A. P. (2011). Genetic control of *Candida albicans* biofilm development. *Nature Reviews. Microbiology*, 9(2), 109–118. doi:10.1038/nrmicro2475
- Gácsér, A., Trofa, D., Schäfer, W. e Nosanchuk, J. D. (2007). Targeted gene deletion in *Candida parapsilosis* demonstrates the role of secreted lipase in virulence. *Journal of Clinical Investigation*, 117(10), 3049–3058. doi:10.1172/JCI32294
- Ganguly, S. e Mitchell, A. P. (2011). Mucosal biofilms of *Candida albicans*, 14(4), 380–385. doi:10.1016/j.mib.2011.06.001.Mucosal
- Ghannoum, M. A. e Rice, L. B. (1999). Antifungal agents: mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 501–517.
- Giolo, M. P. e Svidzinski, T. I. E. (2010). Fisiopatogenia, epidemiologia e diagnóstico laboratorial da candidemia. *Jornal Brasileiro de Patologia E Medicina Laboratorial*, 46(3), 225–234. doi:10.1590/S1676-24442010000300009
- Gow, N. A. R. (2013). Multiple mating strategies. *Fungal Biology*, 244(2009), 5–6. doi:10.1038/nature11945
- Grossman, N. T., Chiller, T. M. e Lockhart, S. R. (2014). Epidemiology of Echinocandin Resistance in *Candida*. *Current Fungal Infection Reports*, 8(4), 243–248. doi:10.1007/s12281-014-0209-7
- Gupta, S. P., Bhati, M., Jhaharia, K., Patel, H., Paliwal, A. e Franklin, S. (2015). Evaluation of Antimicrobial and Antifungal Efficacy of Inter Appointment Intracanal Medicaments against *Enterococcus* and *Candida albicans* : An In Vitro Study, 7(April), 97–102.
- Harriott, M. M., Lilly, E. A., Rodriguez, T. E., Fidel, P. L. e Noverr, M. C. (2010). *Candida albicans* forms biofilms on the vaginal mucosa. *Microbiology*, 156(12), 3635–3644. doi:10.1099/mic.0.039354-0
- Hitchcock, D. S., Fedorov, A. A., Fedorov, E. V., Almo, S. C. e Raushel, F. M. (2014).



- Discovery of a Bacterial 5-Methylcytosine Deaminase. *Biochemistry*, 53(47), 7426–7435. doi:10.1021/bi5012767
- Hung, C.-Y., Gonzalez, A., Wüthrich, M., Klein, B. S. e Cole, G. T. (2011). Vaccine immunity to coccidioidomycosis occurs by early activation of three signal pathways of T helper cell response (Th1, Th2, and Th17). *Infection and Immunity*, 79(11), 4511–22. doi:10.1128/IAI.05726-11
- Jayatilake, J. A. M. S., Samaranayake, Y. H., Cheung, L. K. e Samaranayake, L. P. (2006). Quantitive evaluation of tissue invasion by wild type, hyphal and SAP mutants of *Candida albicans*, and non-albicans *Candida* species in reconstituted human oral epithelium. *Journal of Oral Pathology Medicine*, 35, 484–491.
- Kabir, M. A., Hussain, M. A. e Ahmad, Z. (2012). *Candida albicans*: A Model Organism for Studying Fungal Pathogens. *ISRN Microbiology*, 2012, 1–15. doi:10.5402/2012/538694
- Kasper, D. L., Braunwald, E., Fauci, A. S., Hauser, S. L., Longo, D. L. e Jameson, J. L. (Eds.). (2006). *Harrison Medicina Interna vol.1* (16<sup>a</sup> ed.).
- Koehler, P., Tacke, D. e Cornely, O. (2014). Our 2014 approach to candidaemia. *Mycoses*, 57(9), 519–524. doi:10.1111/myc.12203
- Kontoyiannis, D. P., Mantadakis, E. e Samonis, G. (2003). Systemic mycoses in the immunocompromised host: An update in antifungal therapy. *Journal of Hospital Infection*, 53(4), 243–258. doi:10.1053/jhin.2002.1278
- Kullberg, B.-J., van de Veerdonk, F. e Netea, M. G. (2014). Immunotherapy: a potencial adjunctive treatment for fungal infection. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 27(6), 511–516. doi:10.1097/QCO.0000000000000105
- Laupland, K. B., Gregson, D. B., Church, D. L., Ross, T. e Elsayed, S. (2005). Invasive *Candida* species infections: a 5 year population-based assessment. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56(3), 532–537. doi:10.1093/jac/dki258
- Leão, M. V. P., Silva, C. R. G., Santos, S. S. F. e Leite, P. G. C. (2015). *Lactobacillus rhamnosus* pode alterar a virulência de *Candida albicans*. *Revista Brasileira de Ginecologia E Obstetrícia*, 37(9), 417–420. doi:10.1590/SO100-720320150005217
- Lepak, A. J., Marchillo, K. e Andes, D. R. (2015). Pharmacodynamic Target Evaluation

- of a Novel Oral Glucan Synthase Inhibitor, SCY-078 (MK-3118), Using an In Vivo Murine Invasive Candidiasis Model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59(2), 1265–72. doi:10.1128/AAC.04445-14
- Lockhart, S. R. (2014). Current Epidemiology of Candida Infection. *Clinical Microbiology Newsletter*, 36(17), 131–136. doi:10.1016/j.clinmicnews.2014.08.001
- López-Martínez, R. (2010). Candidosis, a new challenge. *Clinics in Dermatology*, 28(2), 178–184. doi:10.1016/j.clindermatol.2009.12.014
- Manolakaki, D., Velmahos, G., Kourkoumpetis, T., Chang, Y., Alam, H. B., De Moya, M. M. e Mylonakis, E. (2010). Candida infection and colonization among trauma patients. *Virulence*, 1(5), 367–375. doi:10.4161/viru.1.5.12796
- Martinez, L. R. e Fries, B. C. (2010). Fungal biofilms: Relevance in the setting of human disease. *Current Fungal Infection Reports*, 4(4), 266–275. doi:10.1007/s12281-010-0035-5
- Maubon, D., Garnaud, C., Calandra, T., Sanglard, D. e Cornet, M. (2014). Resistance of Candida spp. to antifungal drugs in the ICU: where are we now? *Intensive Care Medicine*, 1241–1255. doi:10.1007/s00134-014-3404-7
- McCormack, P. L. (2015). Isavuconazonium: First Global Approval. *Drugs*, 75(7), 817–822. doi:10.1007/s40265-015-0398-6
- Mendes, J. (2012). Abordagem Diagnóstica e Terapêutica da Candidíase Invasiva em Doentes Adultos Não-Neutropênicos Internados em Unidades de Cuidados Intensivos. *Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas*, 8(2), 76–84.
- Metcalf, S. C. e Dockrell, D. H. (2007). Improved outcomes associated with advances in therapy for invasive fungal infections in immunocompromised hosts. *Journal of Infection*, 55(4), 287–299. doi:10.1016/j.jinf.2007.06.012
- Moriyama, B., Gordon, L. A., McCarthy, M., Henning, S. A., Walsh, T. J. e Penzak, S. R. (2014). Emerging drugs and vaccines for Candidemia. *Mycoses*, 1–16. doi:10.1111/myc.12265
- Naglik, J. R., Challacombe, S. J. e Hube, B. (2003). Candida albicans secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. *Society*, 67(3), 400–428.

doi:10.1128/MMBR.67.3.400

- Neumann, A., Baginski, M., Winczewski, S. e Czub, J. (2013). The effect of sterols on amphotericin B self-aggregation in a lipid bilayer as revealed by free energy simulations. *Biophysical Journal*, 104(7), 1485–1494. doi:10.1016/j.bpj.2013.02.029
- Ozkan, S., Kaynak, F., Kalkanci, A., Abbasoglu, U. e Kustimur, S. (2005). Slime production and proteinase activity of *Candida* species isolated from blood samples and the comparison of these activities with minimum inhibitory concentration values of antifungal agents. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 100(3), 319–323. doi:10.1590/S0074-02762005000300019
- Pakshir, K., Zomorodian, K., Karamitalab, M., Jafari, M., Taraz, H. e Ebrahimi, H. (2013). Phospholipase, esterase and hemolytic activities of *Candida* spp. isolated from onychomycosis and oral lichen planus lesions. *Journal de Mycologie Medicale*, 23(2), 113–118. doi:10.1016/j.mycmed.2013.04.007
- Pappas, P. G., Kauffman, C. A., Andes, D., Benjamin, Jr., D. K., Calandra, T. F., Edwards, Jr., J. E., ... Sobel, J. D. (2009). Clinical Practice Guidelines for the Management of Candidiasis: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, 48(5), 503–535. doi:10.1086/596757
- Pappas, P. G., Rex, J. H., Lee, J., Hamill, R. J., Larsen, R. A., Powderly, W., ... Dismukes, W. E. (2003). A prospective observational study of candidemia: epidemiology, therapy, and influences on mortality in hospitalized adult and pediatric patients. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 37(5), 634–643. doi:10.1086/376906 [rCID30535 [pii]]
- Paramythiotou, E., Frantzeskaki, F., Flevari, A., Armaganidis, A. e Dimopoulos, G. (2014). Invasive fungal infections in the ICU: How to approach, how to treat. *Molecules*, 19(1), 1085–1119. doi:10.3390/molecules19011085
- Pietrella, D., Rachini, A., Torosantucci, A., Chiani, P., Brown, A. J. P., Bistoni, F., ... Vecchiarelli, A. (2009). A  $\beta$ -glucan-conjugate vaccine and anti- $\beta$ -glucan antibodies are effective against murine vaginal candidiasis as assessed by a novel in vivo imaging technique. *Vaccine*, 28(7), 1717–1725. doi:10.1016/j.vaccine.2009.12.021

- Ramage, G., Mowat, E., Jones, B., Williams, C. e Lopez-Ribot, J. (2009). Our Current Understanding of Fungal Biofilms. *Critical Reviews in Microbiology*, 35(4), 340–355. doi:10.3109/10408410903241436
- Reed, S. G., Orr, M. T. e Fox, C. B. (2013). Key roles of adjuvants in modern vaccines. *Nature Medicine*, 19(12), 1597–608. doi:10.1038/nm.3409
- Sardi, J. C. O., Scorzoni, L., Bernardi, T., Fusco-Almeida, A. M. e Mendes Giannini, M. J. S. (2013). Candida species: Current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *Journal of Medical Microbiology*, 62(PART1), 10–24. doi:10.1099/jmm.0.045054-0
- Seghir, A., Boucherit-Otmani, Z., Belkherroubi-Sari, L. e Boucherit, K. (2014). Cathétérisme et risque infectieux fongique au centre hospitalo-universitaire de Tlemcen : épidémiologie et sensibilité aux antifongiques. *Journal de Mycologie Médicale / Journal of Medical Mycology*, 24(4), e179–e184. doi:10.1016/j.mycmed.2014.08.005
- Seyedmousavi, S., Verweij, P. E. e Mouton, J. W. (2015). Isavuconazole, a broad-spectrum triazole for the treatment of systemic fungal diseases. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 13(1), 9–27. doi:10.1586/14787210.2015.990382
- Shoham, S. e Marwaha, S. (2010). Invasive Fungal Infections in the ICU. *Journal of Intensive Care Medicine*, 25(2), 78–92. doi:10.1177/0885066609355262
- Silva, S., Henriques, M., Martins, A., Oliveira, R., Williams, D. e Azeredo, J. (2009). Biofilms of non- *Candida albicans* *Candida* species: quantification, structure and matrix composition. *Medical Mycology*, 47(7), 681–689. doi:10.3109/13693780802549594
- Silva, S., Negri, M., Henriques, M., Oliveira, R., Williams, D. W. e Azeredo, J. (2011). Adherence and biofilm formation of non-*Candida albicans* *Candida* species. *Trends in Microbiology*, 19(5), 241–247. doi:10.1016/j.tim.2011.02.003
- Silva, S., Negri, M., Henriques, M., Oliveira, R., Williams, D. W. e Azeredo, J. (2012). *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. *FEMS Microbiology Reviews*, 36(2), 288–305. doi:10.1111/j.1574-6976.2011.00278.x
- Soll, D. R. (2008). *Candida* biofilms: is adhesion sexy? *Current Biology*, 18, R715–

R720. doi:10.1016/j.cub.2008.07.068

- Spampinato, C. e Leonardi, D. (2013). *Candida* infections, causes, targets, and resistance mechanisms: Traditional and alternative antifungal agents. *BioMed Research International*, 2013. doi:10.1155/2013/204237
- Stehr, F., Felk, A., Gacser, A., Kretschmar, M., Mahns, B., Neuber, K., ... Schafer, W. (2004). Expression analysis of the lipase gene family during experimental infections and in patient samples. *FEMS Yeast Research*, 4(4-5), 401–408. doi:10.1016/S1567-1356(03)00205-8
- Sydnor, E. R. M. e Perl, T. M. (2011). Hospital epidemiology and infection control in acute-care settings. *Clinical Microbiology Reviews*, 24(1), 141–173. doi:10.1128/CMR.00027-10
- Torosantucci, A., Bromuro, C., Chiani, P., Bernardis, F., Berti, F., Galli, C., ... Cassone, A. (2005). A novel glyco-conjugate vaccine against fungal pathogens. *Journal of Experimental Medicine*, 202(5), 597–606. doi:10.1084/jem.20050749
- Tragiannidis, A., Tsoulas, C. e Groll, A. H. (2015). Invasive candidiasis and candidaemia in neonates and children: update on current guidelines. *Mycoses*, 58(1), 10–21. doi:10.1111/myc.12268
- Vonk, A. G., Netea, M. G., van der Meer, J. W. M. e Kullberg, B. J. (2006). Host defence against disseminated *Candida albicans* infection and implications for antifungal immunotherapy. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 6(9), 891–903. doi:10.1517/14712598.6.9.891
- Wiederhold, N. P., Najvar, L. K., Fothergill, A. W., Bocanegra, R., Olivo, M., McCarthy, D. I., ... Patterson, T. F. (2015). The Novel Arylamidine T-2307 Maintains *In Vitro* and *In Vivo* Activity against Echinocandin-Resistant *Candida albicans*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59(2), 1341–1343. doi:10.1128/AAC.04228-14
- Wüthrich, M., Deepe Jr., G. S. e Klein, B. (2012). Adaptive Immunity to Fungi, 18(9), 115–148. doi:10.1146/annurev-immunol-020711-074958.
- Wynngaarden, J. B., Smith, L. H. e Bennett, J. C. (1993). *Cecil: Tratado de Medicina Interna* (19<sup>a</sup> ed.).

- Xin, H. e Cutler, J. E. (2011). Vaccine and Monoclonal Antibody That Enhance Mouse Resistance to Candidiasis. *Clinical and Vaccine Immunology*, 18(10), 1656–1667. doi:10.1128/CVI.05215-11
- Xin, H., Dziadek, S., Bundle, D. R. e Cutler, J. E. (2008). Synthetic glycopeptide vaccines combining beta-mannan and peptide epitopes induce protection against candidiasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(36), 13526–13531. doi:10.1073/pnas.0803195105
- Yapar, N. (2014). Epidemiology and risk factors for invasive candidiasis. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 10(1), 95–105. doi:10.2147/TCRM.S40160
- Zaoutis, T. E., Argon, J., Chu, J., Berlin, J. A., Walsh, T. J. e Feudtner, C. (2005). The epidemiology and attributable outcomes of candidemia in adults and children hospitalized in the United States: a propensity analysis. *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 41(9), 1232–1239. doi:10.1086/496922
- Zarrin, M. e Mahmoudabadi, A. Z. (2009). Invasive candidiasis; a review article. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 2(1), 1–6.
- Zonios, D. I. e Bennett, J. E. (2008). Update on azole antifungals. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 29(2), 198–210. doi:10.1055/s-2008-1063858